219
20

DIE NATUR

DES

MILZBRAND-GIFTES.

4

DIE NATUR

DES

MILZBRAND-GIFTES.

VON

DR. ALBERT HOFFA

PRIVATDOCENT UND KLINISCHER ASSISTENZARZT DER CHIRURGISCHEN ABTHEILUNG
DES KGL. JULIUSSPITALS ZU WÜRZBURG.

WIESBADEN.
VERLAG VON J. F. BERGMANN.
1886.

Das Recht der Uebersetzung bleibt vorbehalten.

Druck der Thein'schen Druckerei (Stürtz) in Würzburg.

MEINEM HOCHVEREHRTEN LEHRER

HERRN

HOFRATH PROFESSOR D^R. MAAS

ALS ZEICHEN DER DANKBARKEIT

GEWIDMET.

Inhaltsverzeichniss.

Seite

I. Historischer Ueberblick 1

II. Cultur der Milzbrandbacillen 21

III. Darstellung des Milzbrandalcaloides nach der Stas-Otto'schen Methode 25

IV. Versuche, das Milzbrandalcaloid nach der Brieger'schen Methode darzustellen 36

V. Darstellung des Milzbrandalcaloides nach einer neuen Methode (E. Fischer) 44

VI. Physiologische Wirkung des Milzbrandalcaloides 47

Literatur 50

I.

Historischer Ueberblick.

Entsprechend der Thatsache, dass der Milzbrand die am längsten bekannte Thierseuche ist — nach Heusinger ist derselbe wahrscheinlich eine der mosaischen Seuchen in Aegypten — ist die Aetiologie desselben Gegenstand mannigfacher Forschungen gewesen. Schon frühzeitig machte man die Beobachtung, dass derselbe infectiöser Natur sei und besonders zahlreiche verheerende Epidemien des achtzehnten Jahrhunderts bewiesen seine Ansteckungsfähigkeit. Nichtsdestoweniger wurde diese doch von vielen Seiten geleugnet, und selbst noch am Anfange unseres Jahrhunderts gab es eifrige Vertheidiger der Nicht-Contagiosität des Milzbrandes. So suchte Kausch [1]) das Wesen desselben beim Rinde in einer Lähmung der Lungennerven, während Delafond 1843 [2]) als Ursache der Erkrankung chemische Bodenverhältnisse, verbunden mit einer Uebernährung der Thiere bezeichnete. Grundlegende experimentelle Untersuchungen Gerlachs [3]) aus dem Jahre 1845 mussten weiterhin jedoch alle Zweifler von der Contagiosität des Anthrax überzeugen. Gerlach lehrte, gestützt auf seine Befunde, dass das Contagium des Milzbrandes flüchtig und von grosser Tenacität sei, dass fernerhin die nächste Ursache oder das Wesen

der Blutseuche primär in einer Vergiftung des Blutes gesucht werden müsse. Die Vergiftung selbst soll entweder idiopathisch entstehen und dann vom Darmkanal ausgehen, oder sie soll durch eine Ansteckung vermittelt werden und kann das Contagium dann auf verschiedenen Wegen ins Blut gelangen. Die Gerlach'schen Untersuchungen wurden fortgeführt von Heusinger[4]), der 1850 in seinem klassischen Werke die Resultate seiner historisch-geographisch-pathologischen Untersuchungen dahin zusammenfasste: Der Milzbrand ist eine Malaria-Neurose, indem das Malaria-Gift zunächst auf das Ganglien-Nervensystem wirkt. In erster Linie entsteht eine Paralyse der Milzgefässe und ein Absterben der Milz — daher der Name Milzbrand nicht zu verwerfen —, dann folgen dieselben Gefässlähmungen, Blutstasen, Blutaustretungen und Brand in den verschiedenen Organen. Beim Milzbrand entwickelt sich ein Contagium, welches wesentlich zur Fortpflanzung der Krankheit beiträgt und dieselbe Wirkung äussert wie die ursprünglich erzeugende Schädlichkeit. Die Aufnahme des Giftes, für das alle Thiere empfänglich sind, erfolgt von den lokal erkrankten Stellen aus durch die Lymph- und hauptsächlich durch die Blut-Gefässe. Dieser Ansicht von Heusinger schliesst sich 1855 auch Virchow [5]) an; er spricht sich für die Malaria-Natur des Milzbrandes aus, führt dabei aber die Entstehung desselben auf ein septisches Ferment zurück und betont den eminent septischen Charakter der ganzen Krankheit, die bald mehr den putriden Fiebern, bald mehr den Gangrän-Formen sich anschlösse. Weiterhin constatirt Virchow, dass das Gift ziemlich lange lokal bleiben und die Bluterkrankung erst spät oder zuweilen gar nicht zu Stande kommen kann. Zur selben Zeit, als in dieser Ansicht Virchows die Lehre des Contagiums scharf charakterisirt wurde, war dasselbe bereits entdeckt worden, ohne dass man jedoch von der Bedeutung desselben eine Ahnung gehabt hätte. Schon im Jahre 1849 hatte Pol-

lender[6]) im Blute milzbrandkranker Rinder eine unendliche Menge feinster stäbchenförmiger Körper gesehen, die nach Gestalt und Aussehen den Vibrionen sehr ähnlich waren. Aus dem microchemischen Verhalten derselben schloss Pollender auf die pflanzliche Natur dieser Körper und bewies, dass dieselben nicht Bruchstücke zerfallener Primitivfasern oder thierischer Faserstoff sein könnten. Die Frage über ihre Herkunft und Entstehung, die Frage, ob sie im lebenden Blute vorhanden oder ob sie nur ein Produkt der Fäulniss seien, ob sie den Ansteckungsstoff vermitteln oder dessen Träger sind, konnte Pollender nicht beantworten. Unabhängig von Pollender fand Brauell[7]) die gleichen Gebilde im Blute von Menschen, Schafen und Pferden, die am Milzbrand gestorben waren. Brauell erklärte dieselben für Vibrionen, die schon im lebenden Blute entstehen und ebenso wie eine Vermehrung der farblosen Blutkörperchen zu den constanten Veränderungen im Blute gehören. Brauell fand ferner, dass das Contagium vom Menschen auf das Schaf übertragbar ist; da er jedoch constatirt zu haben glaubte, dass flüssiges Blut aus dem Carbunkel eines Pferdes schon 24 Stunden vor dem Tode ein tödtliches Contagium enthält, ohne dass in demselben die Stäbchen nachgewiesen werden konnten, so hält er diese letzteren weder für den Ansteckungsstoff selbst, noch für die nothwendigen Träger desselben. Die Stäbchen erscheinen nach ihm im Blute 1 bis 3 Stunden, seltener 8 bis 10 Stunden vor dem Tode, je nach dem rascheren oder langsameren Verlauf der Erkrankung. Die Thiere, in deren Blut die Stäbchen vorhanden sind, gehen alle zu Grunde, während im anderen Falle die Thiere genesen können. Brauell gesteht also den Stäbchen einen diagnostischen und prognostischen Werth zu, während er ihnen die Fähigkeit, den Milzbrand zu erzeugen, abspricht.

Es folgt nun eine Periode, in welcher die Stäbchen eine verschiedenartige Beurtheilung erfuhren, indem sie theils für

Fibrinausscheidungen, Gewebstrümmer, Blutkrystalle, theils für eine Leptothrix-Art gehalten wurden.

Erst im Jahre 1863 wurde der wahre Sachverhalt klar gelegt. Auf Grund eingehender Untersuchungen erklärte nämlich Davaine[8]) die Stäbchen morphologisch für Bacterien und bewies, dass sie allein die Träger der Infection sind, indem er Blut, das dieselben nicht enthielt, ohne Schaden auf andere Thiere überimpfen konnte, während bacterienhaltiges Blut auf andere Thiere überimpft stets typischen Milzbrand erzeugte. Davaine fand die Bacterien in jedem Falle von Milzbrand, so zwar, dass ihr Erscheinen den krankhaften Symptomen vorausgeht. Mit dem Verschwinden der Bacterien, die Davaine übrigens zum Unterschiede von den bewegungsfähigen Fäulnissbacterien Bacteridien nannte, hört die Contagiosität des Anthrax-Blutes auf. Die Zahl der Stäbchen in einem Tropfen Blut schätzte Davaine auf 8—10 Millionen und schon mit einer millionenfachen Verdünnung eines solchen Tropfens konnte er durch Impfung Milzbrand erzeugen. Dass die Bacterien unbedingt Sauerstoff zu ihrem Leben gebrauchen, bewies Davaine dadurch, dass er Milzbrandblut in feine Glasröhrchen mit völliger Entfernung der Luft einschmolz. Die Bacterien starben dann in wenigen Tagen ab und die Impfung mit solchem Blut brachte keinen Milzbrand mehr hervor.

Nachdem Davaine's Arbeiten bekannt geworden waren, wurde die Lehre vom Milzbrand und den stäbchenförmigen Körperchen besonders in Frankreich förmlich zur Tagesfrage. Während Davaine selbst durch fortgesetztes Studium sich grosse Verdienste um die Erkenntniss der Bacterien erwarb, traten zahlreiche Gegner gegen ihn auf, so hauptsächlich Sanson[9]), Leplat[10]), Jaillard[10]) und Bouley[10]), die verneinten, dass die Stäbchen die Träger des Contagium séien, da sie dieselben häufig nicht fanden und trotzdem mit dem betreffenden Blute wieder Milzbrand erzeugen konnten. Es erklären sich diese

Differenzen, wie Bollinger[10]) wohl mit Recht bemerkt, aus der damals noch grossen Schwierigkeit des Nachweises der Bacterien und aus dem Mangel an Uebereinstimmung über das was man zum Milzbrand rechnen sollte. Die bisher von den Botanikern vernachlässigten Bakterien wurden nun auch von dieser Seite Gegenstand eifriger Diskussion. Nachdem die Versuche Hallier's, die ganze Lehre von den niederen Pilzen umzugestalten, missglückt waren, wurden die Anthrax-Bacterien besonders von De Bary, H. Hoffmann und Ferd. Cohn auf der von Ehrenberg und Naegeli geschaffenen Grundlage erforscht. Weitaus die wichtigsten Arbeiten aber, welche die Lehre von der Morphologie der Milzbrandbacillen bis zu ihrer heutigen Vollkommenheit förderten, knüpfen sich in den letzten Decennien an die Namen der unermüdlich thätigen Forscher: Bollinger[10]), R. Koch[11]), Pasteur[12]), De Bary[13]), Toussaint[14]), Chauveau, H. Buchner u. a. Durch die von Pasteur und Koch gelehrte Züchtung der Milzbrandbacillen auf künstlichem Nährboden wurde vor allem über jeden Zweifel sicher gestellt, dass die Bacillen die Träger der Infection sind, indem die in Reinculturen gezüchteten Bacillen im Stande sind, auf Thiere überimpft bei diesen das typische Krankheitsbild des Milzbrandes zu erzeugen.

Wenn wir kurz den heutigen Standpunkt unserer Kenntniss von den Milzbrandbacillen charakterisiren sollen, wie er uns durch oben genannte Forscher gelehrt wurde, so sind die Stäbchen wie man sie im Blute an Milzbrand erkrankter Thiere findet, 5—20 μ lang und 1,0—1,25 μ breit und vermehren sich durch Quertheilung. Sie lassen sich in Blutserumgelatine, in Bouillon, im Saft von Kartoffeln und Rüben, in Infusen von Erbsen und gequetschten Sämereien etc. bei Sauerstoffzutritt züchten und wachsen am raschesten bei einer Temperatur von 30—40° C. Bei einer Temperatur unter 15° und über 43° ist eine Entwicklung nicht möglich, ebenso auch nicht bei Abschluss des Sauerstoffes.

Sind die genannten Entwickelungsbedingungen gegeben, so wachsen die Stäbchen in die Länge und können innerhalb weniger Stunden Fäden von bedeutender Grösse bilden. Nach weiteren 10 Stunden wird der helle Inhalt des Fadens granulirt und es scheiden sich in regelmässigen Abständen mattglänzende Körper ab, die sich nach einigen Stunden zu stark lichtbrechenden Sporen vergrössern. Weiterhin zerfallen die Fäden und die Sporen werden frei.

Nach Koch besteht jede Spore aus einem glänzenden, scharf abgegrenzten Körper und aus einem hellen Protoplasmahof, welcher bei der Keimung zu einem Stäbchen heranwächst. Nach Brefeld, Prazmowski, Klein u. a. besteht die Spore aus einem protoplasmatischen Centrum, das von einer doppelten Membran, dem Exosporium und dem Endosporium umschlossen ist. Bei der Keimung wird das letztere durchbrochen, das erstere wird zur Membran des Keimlings. Der Keimling vermehrt sich durch Theilung.

Schwärmungszustände werden während des ganzen Entwicklungsvorganges nicht beobachtet.

Die Milzbrandbacillen gehen durch hohe Temperaturen, durch Eintrocknen und durch Fäulniss des Nährbodens leicht zu Grunde. Die Sporen dagegen sind sehr resistent und sind danach auch die häufigsten Vermittler der Infection. Diese kann sowohl vom Darm als auch von der Lunge und von verletzten Stellen der äusseren Haut aus erfolgen.

Durch den erstgenannten Uebertragungsmodus erkranken Thiere, welche verunreinigtes Futter oder Wasser erhalten; die zweite Art der Infection kann in inficirten Ställen vorkommen und die dritte durch Verletzung mit verunreinigten Gegenständen, endlich auch z. B. durch den Biss von Hunden, welche Fleisch milzbrandkranker Thiere gefressen haben, oder durch den Stich von Fliegen, welche kranken Thieren Blut entnommen haben.

Nach Experimentaluntersuchungen von Koch muss man annehmen, dass die Infection am häufigsten vom Darm aus erfolgt und dass sie hier durch Sporen vermittelt wird, indem die Bacillen im Magensaft zu Grunde gehen. Gelangen die Sporen und die aus ihnen entstandenen Bacillen in das Blut, so vermehren sie sich hier durch Theilung und können sich schliesslich in solcher Menge entwickeln, dass sie auf einem Durchschnitte durch die Blutkapillaren in grösserer Zahl sichtbar sind. Besonders reich an Bacillen sind die Capillaren der Milz, der Lungen, der Leber und der Nieren. Beim Menschen erfolgt die Infection ebenfalls vom Darm oder von Wunden der Haut aus und verursacht an den Impfstellen eine örtliche meist hämorrhagische Entzündung.

Durch Züchtung der Bacillen bei $42-43^0$ (Toussaint, Pasteur, Koch) lassen sich dieselben in ihrer Wirksamkeit so abschwächen, dass sie erst Schafe, dann Kaninchen und Meerschweinchen und schliesslich Mäuse nicht mehr tödten. Ist die Temperatur nahe an 43^0, so kann dieser Zustand schon in 6 Tagen erreicht werden, bei 42^0 kann es gegen 30 Tage dauern, bis die Virulenz so gering geworden ist (Koch). Durch eine erste Impfung mit Bacillen, welche Mäuse tödten, aber für Meerschweinchen unschädlich sind und eine zweite Impfung mit Bacillen, welche Meerschweinchen, nicht aber kräftige Kaninchen tödten, kann man Schafe und Rinder, nicht aber Meerschweinchen, Mäuse und Kaninchen gegen Milzbrand immun machen. Praktisch ist indessen diese Schutzimpfung nicht verwerthbar, da sie, um gegen die natürliche Infection vom Darm aus zu schützen, mit sehr virulentem Impfstoff ausgeführt werden muss, so dass ein grosser Procentsatz der Schafe (10—15%) an der Präventivimpfung zu Grunde geht. Hiezu kommt, dass der Schutz nur von kurzer Dauer ist, und die Impfung somit etwa nach Jahresfrist wiederholt werden muss (Ziegler).

Wenn es nach dem bisher Gesagten heutzutage absolut sicher ist, dass die Milzbrandbacillen die Träger der Infection sind, so ist die physiologische Wirkung dieser im Thierkörper bisher nur erst Gegenstand der Vermuthung gewesen. Davaine, der Entdecker der infectiösen Natur der Bacillen, erklärte das ganze Krankheitsbild dadurch, dass die Blutkörperchen eine gewisse Klebrigkeit erhalten sollten, sodass sie zur Verstopfung der kleinen Blutgefässe führten. Es ist mit dieser Ansicht natürlich nichts gewonnen, obwohl auch andere Forscher Davaine's Behauptung bestätigten, so namentlich Klebs, Pasteur und Bollinger. Pasteur[12]) fand, als er nach dem Vorgange Tiegel's Milzbrandblut vermittelst eines luftverdünnten Raumes durch Gyps und Thoncylinder filtrirte, dass das von den Bacterien befreite Serum anderem Blute zugesetzt ein Zusammenballen der Blutkörperchen dieses letzteren hervorrufe, und bezeichnet den dieses verschuldenden Stoff als Diastase. Bollinger (l. c.) erklärt die Neigung der Blutkörperchen zur Geldrollenbildung durch die Eigenschaft der Bacterien, das Blutfibrin und das Hämoglobin rasch erweichen zu können. Bollinger[15]) begnügte sich jedoch nicht mit diesem pathologisch-anatomischen Befund, sondern machte sich bestimmte Vorstellungen über die Wirkungsweise der Anthrax-Bacillen. Er theilte den Milzbrand nach seinen Symptomen in 3 Hauptformen ein und hielt die Wirkung der Bacillen bei diesen verschiedenen Formen des Anthrax für verschieden. Die 3 Formen selbst sind folgende: 1) Der Apoplectiforme Anthrax s. Anthrax acutissimus, dessen Dauer nur Minuten bis zu mehreren Stunden beträgt. 2) Der Acute Milzbrand s. Anthrax acutus, dessen Dauer mehrere Stunden bis zu einigen Tagen beträgt 3) der Subacute Milzbrand s. Anthrax subacutus, der längere Zeit dauert.

In den sehr häufigen apoplectiformen Anthraxfällen sollen nun die Bacterien bei ihrer raschen Vermehrung im Blute vermöge ihres grossen Sauerstoff-

Bedürfnisses und ihrer grossen chemischen Affinität zum Sauerstoff diesen mit grosser Begierde und in grosser Menge absorbiren, indem sie ihn den rothen Blutkörperchen entziehen. Entsprechend dieser Wirkung, welche bald Sauerstoffmangel und Kohlensäureüberladung des Blutes zur Folge haben muss, sollen die am lebenden milzbrandkranken Thiere auftretenden Symptome die der Kohlensäureintoxication sein (Dyspnoe, Cyanose, klonische Krämpfe, erweiterte Pupillen, erniedrigte Temperatur und die Erscheinungen der Asphyxie). Ebenso sollen bei der Section sämmtliche Veränderungen wie bei der CO_2-Vergiftung gefunden werden: Ueberfüllung des Venensystems, dunkle theerartige Beschaffenheit des Blutes, kleine Blutungen in verschiedenen Organen, cyanotische Färbung der parenchymatösen Organe, Lungenhyperämie. Die Kohlensäureüberladung des Blutes soll ausserdem noch wesentlich dadurch gesteigert werden, dass bei dem lebhaften Oxydationsprozesse im Blute ein weiteres Quantum von Kohlensäure als Verbrennungsprodukt erscheint. Bollinger vergleicht weiterhin den Tod bei diesen apoplectiformen (fulminanten) Anthraxfällen mit den Todesfällen bei Blausäurevergiftung, indem er sich an die jetzt bekanntlich widerlegten Angaben Preyer's hält, wonach bei der Blausäurevergiftung der Tod durch Erstickung erfolgen soll, indem die Blausäure dem Blute den Sauerstoff entzöge.

Für die langsamer verlaufenden Fälle von Anthrax postulirt Bollinger ein secundär im Blut gebildetes chemisches Gift, welches das Fieber und die übrigen Erscheinungen hervorrufen soll. Bei der Entstehung der Carbunkel, der ödematösen Infiltrationen, der Transsudate, der Blutungen, soll dann noch drittens eine mechanische Wirkung der Bacterien in Folge von Bacterienembolieen zu Stande kommen.

Für diese drei von Bollinger aufgestellten Theorien über die Wirkung der Milzbrandbacterien, also die der Sauerstoffent-

ziehung, der mechanischen Wirkung und der Produktion chemischer Gifte wurden weiterhin von den verschiedensten Forschern Beweise und Gegenbeweise beizubringen gesucht, wie sich aus dem folgenden ergibt.

Betrachten wir zunächst die Theorie der Sauerstoffentziehung, für die von späteren Forschern besonders Szpilmann[16]) eintrat, da er bei seinen Versuchen über das Verhalten der Milzbrandbacillen in Gasen das grosse Sauerstoffbedürfniss der Milzbrandbacillen kennen lernte. Während Ozon die Fäulnissbakterien tödtet, sah Szpilmann die Milzbrandbacillen in demselben leben und sich vermehren.

Von allen Autoren wird einstimmig angegeben, dass der Tod milzbrandiger Thiere ein asphyktischer ist. Es wäre also verlockend, die Bollinger'sche Theorie der Sauerstoffentziehung zu adoptiren, wenn nicht gewichtige Gründe gegen dieselbe sprächen. Wenn wirklich die Sauerstoffentziehung aus dem Blute durch die Bacterien den Milzbrandtod verursachen sollte, so müssten die Bacterien in ungeheurer Anzahl im Blute vorhanden sein. Sie müssten die Blutkörperchen, wie sich Virchow[17]) ausdrückt, gleichsam belagern und ihnen jede Sauerstoffzufuhr von aussen abschneiden. Allein die Erfahrung lehrt, dass das Milzbrandblut eben gestorbener Thiere oft sehr arm an Bakterien ist. Beweise hierfür haben zuverlässige Autoren in genügender Anzahl beigebracht. So erwähnt z. B. Virchow[17]), dass er bei einer Epizootie unter den Dammhirschen des Grunewaldes oft nur äusserst spärliche Microorganismen bei den gefallenen Thieren gefunden habe. Bollinger selbst berichtet, dass die Milzbrandbacillen oft nur lokalisirt bleiben und spärlich in's Blut gelangen. Siedamgrotzky[18]), welcher Zählungen der Bacterien vornahm, fand, dass die von Davaine geschätzte Zahl (8—10 Millionen in einem Blutstropfen) für die Mehrzahl der Fälle entschieden übertrieben ist, dass vielmehr die Zahl der Bacillen im lebenden

Blute oft eine relativ geringe ist; ja Joffroy[19]) will bei seinen Impfversuchen gesehen haben, dass der Tod eintreten kann, ohne dass sich die Milzbrandbacillen im Blute entwickelt hätten. Einen wichtigen Gegenbeweis gegen die genannte Theorie führt weiterhin Oemler[20]) an, indem er constatirte, dass das Blut, wenn es schon virulent und bacterienhaltig ist, seine hellrothe Farbe noch besitzt; es ist dies ein Befund, den ich selbst wiederholt bestätigen konnte. Toepper[21]) citirt, sich gegen die Bollinger'sche Theorie aussprechend, eine grosse Anzahl von Fällen, die apoplectisch zum Tode führten, während die Thiere vollständig gesund erschienen und namentlich keine Athembeschwerden zeigten. Die gleiche Erfahrung bestätigt Roloff[22]), indem er angiebt, dass die Thiere schon sehr lange krank sein können, ohne besonders dyspnoisch zu sein. Man müsste in solchen Fällen annehmen, dass die Bacillen sich in kürzester Zeit ausserordentlich stark vermehren müssten, was doch wohl kaum denkbar ist. Pasteur sagt nun aber, dass die Blutkörperchen bis zu einem gewissen Zeitpunkte im Stande wären, den Sauerstoff zu halten, während sie dies später nicht mehr vermöchten. Als Beweis führt er an, dass die Vögel nicht an Milzbrand zu Grunde gingen, weil die Blutkörperchen bei den Vögeln so resistent seien, dass die Bacterien ihnen den Sauerstoff nicht zu entziehen im Stande seien. Diese Angaben Pasteur's sind falsch, da Oemler und Feser[23]) bewiesen haben, dass Singvögel und Sperlinge für den Milzbrand eine sehr hohe Empfänglichkeit haben. Wie die genannten Forscher sprechen sich, auf Grund der angeführten Thatsachen auch Colin[24]) und De Bary gegen die Theorie Bollinger's aus, und Toussaint widerlegte dieselbe, indem er mit Milzbrandbacillen geimpfte Thiere eine stark mit Sauerstoff gemengte Luft einathmen liess; dabei fand er, dass dadurch der Tod der inficirten Thiere weder verlangsamt noch gar verhindert wurde. Schliesslich sind noch einige Versuche von

Nencki [25]) zu erwähnen, welche die Unhaltbarkeit der Bollinger'schen Theorie darthun sollen. Nencki bestimmte mittelst der von ihm und N. Sieber [25]) beschriebenen Methode zur Messung der physiologischen Oxydation — bei Kaninchen im gesunden Zustand und nach der Infection mit Milzbrand die Menge des nach der Einführung von 1 gr Benzol ausgeschiedenen Phenols; dabei konnte er unter dem Einflusse von Milzbrand keine Abnahme des gebildeten Phenols constatiren. Zugleich erinnert Nencki daran, dass man bei der Section an Milzbrand gestorbener Thiere die Bacillen im Blute und in den Organen oft nur in ganz minimer Anzahl findet.

Ueberblicken wir das Gesagte, so müssen wir nothwendiger Weise die Theorie der Sauerstoffentziehung fallen lassen, so annehmbar sie auch von vornherein zu sein scheint. Aus dem Obigen erhellt aber auch zugleich, dass eben so wenig an eine rein mechanische Wirkung der Bacillen zu denken ist, da sie ja oft nur in relativ geringer Anzahl im Blute vorhanden sind. Diese Theorie von der mechanischen Wirkung der Milzbrandbacillen fand vorzüglich in Toussaint [14]) und Klebs [26]) eifrige Vertreter. Besonders Toussaint suchte den Nachweis zu führen, dass der Milzbrandtod eine Folge der mechanischen Behinderung des Lungenkreislaufs sei. Im Momente des Todes sollen die Capillargebiete der Lungen durch Bacterienhaufen vollständig verstopft sein und so soll eine Ueberfüllung des venösen und vollständige Leerheit des arteriellen Kreislaufs entstehen. Dieser Ansicht kann ich nicht beistimmen; denn bei zahlreichen Schnittpräparaten durch die genannten und andere Organe an Milzbrand gestorbener Thiere konnte ich niemals eine wirkliche Bacterienembolie constatiren, wobei ich noch daran erinnern möchte, dass sich die Bacillen noch postmortal im Blute vermehren können. Auch andere Forscher, die ihr Augenmerk besonders darauf richteten, so Siedam-

grotzky[18]), Virchow[17]) Colin[24]) u. a. konnten niemals wirkliche Agglomerate von Bacillen im Blute finden, betonen vielmehr, dass die Circulation stets frei bleibt, wenn die Bacillen auch noch so reichlich vorhanden sind. Siedamgrotzky speciell macht darauf aufmerksam, dass der pathologisch-anatomische Befund der Transudationen und Blutungen nicht allein durch die Verstopfung der Gefässe erklärt werden kann, sondern dass man dabei auch ebenso gut ein von den Bacillen gebildetes chemisches Gift beschuldigen kann, das den Zusammenhang der Gefässwände alterirt.

Diese letztere Ansicht führt uns zur dritten Hypothese Bollingers, zur chemischen Wirkung der Bacillen.

Hierbei könnte man nun folgende 3 Möglichkeiten annehmen.

Erstens: Es könnte an den Bacillen selbst das specifische Gift haften, d. h. die Bacillen könnten selbst giftig sein und mit der Vermehrung der Bacillen würde das Gift an Quantität zunehmen, bis es im Stande ist, die tödtliche Wirkung hervorzurufen. Ein Vertreter dieser Ansicht scheint Neelsen[27]) zu sein. Eine solche Theorie würde nur Geltung haben können, wenn wirklich die Bacillen stets in ausserordentlicher Menge in dem Blute eben gestorbener Thiere vorhanden wären; dies ist jedoch, wie wir oben gesehen haben, nicht der Fall. Ich glaube, dass gegen die Annahme der angeführten Ansicht auch folgender von mir gemachter Versuch spricht. Mehreren Kaninchen wurden 3 — 4 Pravaz'sche Spritzen, von denen eine jede die ganze Reinkultur von in Gelatine gezüchteten Milzbrandbacillen enthielt, in die Vena jugularis injicirt. Wäre das Gift ein integrirender Bestandtheil der Bacillen, so hätte diese Ueberschwemmung des Blutes mit Milzbrandbacillen den Tod nach kurzer Zeit hervorrufen müssen; allein die Thiere blieben vorerst am Leben und starben erst wie nach einer gewöhnlichen Milzbrandimpfung nach 24 bis 48 bis 72 Stunden. Die chemische Untersuchung der Milz-

brandbacillen, und Sporen gibt für eine solche Anschauung ebenfalls keine Anhaltspunkte. Nencki[25]) fand, dass die Hauptmasse der Proteinsubstanzen derselben von einem eigenthümlichen Eiweissstoff gebildet wird, der in seinem chemischen Verhalten einerseits mit den Pflanzenkaseinen andererseits mit den thierischen Schleimstoffen Aehnlichkeit hat. Dieser Eiweisskörper, das „Anthraxprotein", ist in Alkalien leicht löslich, in Wasser, Essigsäure und verdünnten Mineralsäuren dagegen unlöslich und enthält keinen Schwefel.

Zweitens: Es könnten die Bacillen ein fermentartig wirkendes, im Blute lösliches Gift aus sich heraus absondern, nachdem sie die als Nahrung aufgenommenen Substanzen in sich zu giftigen Produkten umgewandelt haben. Als Vertreter dieser Theorie sind Toussaint und De Bary zu nennen. De Bary stützt sich auf die Beobachtung Metschnikoff's, dass nicht virulente Milzbrandbacillen von den Blutzellen leicht, virulente dagegen von diesen so gut wie gar nicht aufgenommen werden und glaubt deshalb annehmen zu müssen, dass das supponirte Gift an der Oberfläche des Bacilluskörpers hafte. Er nimmt weiter an, dass das Gift in sehr geringer absoluter Menge abgesondert werde und wirksam ist, oder dass es sich ausserhalb des lebenden Körpers rasch zersetzt und seine Wirksamkeit verliert. Auch diese Annahme ist nicht haltbar. Es spricht dagegen die Thatsache, dass man filtrirtes Blut ohne Schaden anderen Thieren einspritzen kann. Solche Versuche wurden zuerst von Pasteur gemacht, er filtrirte die Milzbrandbacillen durch Thoncylinder ab und konnte dann selbst grössere Quantitäten des filtrirten Blutes übertragen, ohne irgend einen Effekt damit zu erzielen. Das gleiche Experiment kann man ebenso mit auf künstlichen Nährböden gezüchteten Bacillen und Sporen wiederholen. So impfte z. B. Nencki eine 2% Nährgelatine mit einer Reinkultur von Milzbrandbacillen, diese verflüssigen rasch die Nährlösung und bilden nach reichlicher Entwicklung

einen Bodensatz, während die darüber befindliche Flüssigkeit vollständig klar wird. Filtrirte er nun diese klare alkalisch reagirende Flüssigkeit, welche noch viel gelöstes Anthraxprotein enthielt, so konnte er Kaninchen selbst 5 ccm. dieser Flüssigkeit subcutan injiciren, ohne dass dadurch irgend welcher Schaden für die Thiere entstanden wäre. Die gleichen Versuche mit demselben negativen Resultate habe ich wiederholt, indem ich Nährlösungen benützte, die theils aus Brodinfusen, theils aus Traubenzuckerlösungen mit Zusatz von etwas Liebig'schem Fleischextract bestanden. Weiterhin möchte ich noch Versuche von Frisch [28]) hier erwähnen, welche gegen einen gelösten fermentartigen Stoff sprechen. Frisch machte Impfungen der Hornhaut mit Milzbrandblut. Trotzdem sich nun die Milzbrandstäbchen massenhaft in der Cornea entwickelten, ging kein Thier an Milzbrand zu Grunde. Trügen die Milzbrandbacterien ein lösliches Gift an sich, so hätte dieses in die Säfte des Impf-Thieres eindringen und eine tödtliche Allgemeininfection bewirken müssen.

Kommen wir nun zur dritten Möglichkeit der chemischen Wirksamkeit der Bacillen, derjenigen, dass sie **toxische Stoffe aus complexen, im Organismus vorhandenen Verbindungen abspalten**. Wie oben erwähnt, wurde diese Möglichkeit bereits von Bollinger in's Auge gefasst und Siedamgrotzky hielt sie für die Einzigberechtigte. Er führte dafür aus seinen Versuchen folgende Thatsachen an. Bei der Impfung des Milzbrandblutes in den Hautkörper erfolgt als Effect stets eine entzündliche Anschwellung. Dieselbe überragt den Herd, in welchem Bacillen nachgewiesen werden können, stets um einen erheblichen Theil und dies kann nur geschehen durch die Erzeugung chemischer Stoffe, welche sich schneller im Gewebe durch die Lymphräume bewegen, als die Bacillen. Ferner beobachtet man das Ansteigen der Temperatur bei Kaninchen sicher schon 24 Stunden nach der Impfung, während Bacillen im Blute meist erst kürzere Zeit vor dem Tode nach-

gewiesen werden, zu einer Zeit, in der die Temperatur oft wieder abfällt. Ganz entschieden spricht sich Virchow für diese letztgenannte Möglichkeit aus. Er nimmt an, dass die Microorganismen durch ihre Vegetationen aus Stoffen, welche sie der Nachbarschaft entziehen und welche sie zum Aufbau ihres Leibes und bei ihrer Vermehrung verwenden, neue Stoffe erzeugen, wobei als Abfall und Auswurfstoff ein Körper von bestimmten schädlichen Eigenschaften entsteht. Die Bacillen selbst sind nicht giftiger Natur, vielmehr kann der Organismus erkranken durch Uebertragung der fertig gebildeten giftigen Substanz, ohne dass Bacterien mit übertragen werden. Ganz besonders gewinnt die Hypothese, dass die Milzbrandbacillen toxische Produkte erzeugen, an Wahrscheinlichkeit, wenn man nach den Lebensäusserungen anderer Bacterien einen Analogieschluss ziehen darf, indem ja für die Fäulnissbacterien die gifterzeugende Wirkung direkt bewiesen worden ist. Wir müssen hier kurz auf die diesbezüglichen Forschungen eingehen. Das Verdienst, zuerst ein chemisch reines, durch die Thätigkeit der Fäulniss-Organismen erzeugtes, sogenanntes putrides Gift dargestellt zu haben, gebührt Panum[29]); das Gift war durch Kochen und Eindampfen nicht zerstörbar und hatte physiologisch eine den Schlangengiften und Pflanzenalkaloiden ähnliche Wirkung. C. O. Weber[30]), Hemmer[31]), Schwenninger[32]), Stich[33]) und Thiersch[34]) schlossen sich der Ansicht Panums an, dass das putride Gift chemischer Natur sei, isolirten dasselbe jedoch nicht. Bence-Jones und Dupré[35]) stellten dann aus faulen Organtheilen von Menschen und Thieren eine als animalisches Chinoidin bezeichnete Base dar, während Bergmann und Schmiedeberg[36]) aus fauler Hefe ihr schwefelsaures Sepsin gewannen. Mittels des Otto-Stas'schen Verfahrens isolirten ferner im Jahre 1869 Zuelzer und Sonnenschein[37]) aus Macerationsjauche einen atropinähnlichen und Rörsch und Fasbender[38]) einen digitalinähnlichen Körper. Senator[39]), Hiller[40]) und

Miculicz[41]) bekamen durch Extrahiren faulender Massen mit Glycerin Substanzen, welche ebenfalls septische Wirkungen zeigten und von Billroth[42]) als Fäulnisszymoid bezeichnet wurden. Hervorragenden Antheil an der Aufsuchung der Fäulnissalcaloide nahmen weiterhin Moriggia und Battistini, Schwanert[43]), Otto[45]) und vor Allem Selmi[46]). Letzterer gab den Fäulnissalcaloiden den Namen Ptomaine und gewann verschiedene nicht krystallisirte Körper, die hinsichtlich ihrer Wirkungen dem Morphin, Coniin, Atropin, Delphinin und Curarin glichen. Ebenso fanden durch Selmi angeregt Brugnatelli, Zenoni[47]) und Cortes[48]) in faulem Mais eine strychninartige Base. Das erste Ptomain, welches wirklich in reinem Zustand dargestellt wurde, fand Nencki; es erhielt die Bezeichnung Collidin. Das Platinsalz desselben krystallisirt in schönen, flachen Nadeln und hat die Formel $C_8H_{11}N$. Ein mit dem Nencki'schen Collidin identisches Alcaloid stellten Gautier und Étard[49]) dar; sie fanden aber ausserdem noch ein zweites krystallinisches Alcaloid, das als Parvolin bezeichnet wurde. Willgerodt[50]) fand ein toxisches Alcaloid in faulender Leber und Maas[51]) erhielt aus Muskeln und Hirnsubstanz in den ersten Stadien der Fäulniss ein sehr giftiges Gemisch von Alcaloiden. Durch Aether, Amylalcohol und Chloroform liessen sich aus diesem Gemisch einzelne krystallinische Alcaloide isoliren, welche theils morphinähnliche, theils curare und strychninähnliche Wirkung auf den Thierkörper hatten.

Eine neue Aera in der Geschichte der Fäulnissalcaloide wurde weiterhin von Brieger[52]) eingeleitet. Während die bisherigen Untersuchungen meist mittelst der Otto-Stas'schen und Dragendorff'schen Methode ausgeführt wurden, schuf sich Brieger eine eigene Methode, mittelst deren es gelingt, die in den verschiedenen Stadien der Fäulniss und bei verschiedener Temperatur auftretenden Alcaloide als chemisch

reine Körper darzustellen. Brieger gewann mittelst dieser Methode bereits 7 verschiedene Fäulnissbasen, von denen die Mehrzahl Diamine sind (Cholin, Neuridin, Cadaverin, Putrescin, Saprin, Thrimethylamin und Mydalein). Ein Theil dieser Basen wirkt ausserordentlich toxisch, während die grössere Zahl derselben allerdings keine giftigen Eigenschaften besitzt. Diese Thatsache, dass solche Basen durch die Einwirkung der Fäulnissbacterien aus den thierischen Geweben entstehen, lässt es nun von vornherein erwarten, wie dies besonders Maas hervorgehoben hat, dass die pathogenen Bacterien in noch erhöhterem Maasse diese Eigenschaft besitzen werden. In der That hat Brieger denn auch bereits für die Bacillen des Typhus abdominalis und den Staphylococcus pyogenes aureus (Rosenbach) solche Ptomaine gefunden.

Wie oben erläutert, lag nun auch die Vermuthung nahe, dass die Milzbrandbacillen bei ihrer Entwicklung im Thierkörper ein chemisches Gift erzeugen würden und dieses eventuelle Alcaloid nachzuweisen, stellte ich mir auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, Prof. Maas, zur Aufgabe.

Bevor ich jedoch meine eigenen Versuche mittheile, erübrigt mir noch zum Schlusse dieses historischen Theiles die Mittheilung einiger Versuche Osol's[53]), welche die oben angeführten durch die exacten Methoden Koch's sicher gestellten Anschauungen über das Milzbrandcontagium über den Haufen zu werfen bestimmt sind. Osol versetzte das Blut an Milzbrand gestorbener Thiere mit gleichen Theilen Wasser, kochte und filtrirte diese Mischung mehrmals und injicirte sie sodann Schafen, Kaninchen und Mäusen. Während kleine Quantitäten dieser injicirten Flüssigkeit sich als durchaus wirkungslos erwiesen, wurden die Versuchsthiere durch grössere Mengen getödtet und zwar starben sie unter den Erscheinungen

des klassischen Milzbrandes, während die Section im Blute der gestorbenen Thiere das Vorhandensein typischer Milzbrand-Bacillen oder falls diese fehlten, das Vorhandensein von Protococcen nachwies. Unter Protococcen versteht dabei Osol runde Körperchen, die als Vorstufen resp. als Entwickelungsformen der Milzbrandbacillen angesehen werden und in Nährlösungen zu Milzbrandbacillen heranwachsen sollen! Normales gekochtes Blut in derselben Quantität, wie gekochtes microorganismenfreies Anthraxblut injicirt, ruft keine Krankheitserscheinungen hervor. Osol folgert aus diesen Versuchen, dass in dem Blute an Milzbrand gefallener Thiere ein in Wasser löslicher specifischer Giftstoff enthalten ist, kommt aber dann weiter noch zu folgender wunderbarer Anschauung, um das Vorhandensein der Milzbrandbacillen oder Protococcen im Blute seiner mit dem Gifte geimpften Thiere zu erklären. Entweder soll der genannte Giftstoff seine ersten Wirkungen auf die morphotischen Elemente des Blutes ausüben und den Inhalt der Blutkörperchen zu Protococcen und Bacillen differenziren, oder aber es sollen durch Einverleibung des Giftes in den thierischen Organismus die Säfte des gesunden Körpers so verändert werden, dass die schon während des normalen Zustandes in den Geweben vorhandenen Microorganismen oder die Keime derselben auf einmal lebens- und vermehrungsfähig werden und sich in typische Milzbrandbacillen umwandeln! „Mithin stellen die Anthraxbacterien nicht das Primäre, sondern das Secundäre des Milzbrandes dar und erhalten ihre Wirkung erst durch den Einfluss eines unorganischen chemischen Giftes." In wie weit sein chemisches Material als solches weitere Wirkungen ausübte, sagt Osol nicht.

Es ist mir wahrscheinlich, dass Osol sich Versuchsfehler zu Schulden kommen liess, indem sich trotz des mehrmaligen Kochens Milzbrandsporen in seine Injectionsflüssigkeit eingeschlichen hatten.

Die Versuche Osol's wurden genau nach seinen Angaben von W. Koch[54]) wiederholt. Ich entnehme dies der Koch'schen Monographie über den Milzbrand und Rauschbrand, die soeben, während des Druckes vorliegender Arbeit erschienen ist. Bezüglich der Osol'schen Protococcen und seiner erst im Blute formirten Milzbrandbacillen ist W. Koch, wie dies nicht anders zu erwarten war, zu absolut negativem Resultat gelangt; er spricht sein Bedauern darüber aus, diese Versuche Osol's wiederholt zu haben, indem er versichert, keine einzige Thatsache gefunden zu haben, welche den Phantasien Osol's als Stütze dienen könnte. Das Vorhandensein eines chemischen Giftes im Blute hat dagegen W. Koch, wenn auch vorerst unter gewisser Reserve, bestätigt. W. Koch behandelte das Blut an Milzbrand gestorbener Thiere in gleicher Weise wie Osol, andererseits experimentirte er aber auch mit dem flüssigen körperlosen Antheil von Milzbrandculturen, deren Substrat neutralisirte Hühnerbouillon war. Diese Flüssigkeiten, in grösserer Menge Schafen und Kaninchen in die Blutbahn gebracht, bewirkten augenblicklich die äusserste Dyspnoe. Dieselbe hielt nach der Grösse der Dosis verschieden lang, doch mindestens eine Stunde an und war mit Fiebersteigerungen von 1—2° C. vergesellschaftet. Koch ist wie wir der Ansicht, dass den Stoffwechselproducten, den Alcaloiden der Milzbrandbacillen jedenfalls eine grosse Rolle in der Erzeugung des typischen Anthraxbildes zukommt, daneben lässt er jedoch für die Dyspnoe theilweise noch eine mechanische Erklärung zu, indem der Gaswechsel durch die blutigen Exsudationen in die Schleimhaut des Kehlkopfes, in die Pleuren, Pericard und Lungen sicher gehindert werden könne.

Ich gehe nunmehr zur Schilderung meiner Untersuchungen über und beginne zunächst mit der Cultur der Milzbrandbacillen, die den Ausgangspunkt nachfolgender Versuche bildete.

II.
Cultur der Milzbrandbacillen.

Die Milzbrandbacillen, mit welchen nachfolgende Untersuchungen angestellt wurden, züchtete ich aus Dauersporen, die ich — an Seidenfäden angetrocknet — vor nunmehr $2^1/_2$ Jahren durch die Güte des Herrn Prof. Weigert aus Leipzig erhielt. Ein Theil dieser Milzbrandsporenfäden wurde auf sterilisirte Kartoffeln geimpft und so Reinculturen von Milzbrandbacillen erhalten, der grössere Theil wurde jedoch zu Infectionsversuchen an Kaninchen, Meerschweinchen und weissen Mäusen benutzt. Die Sporenfäden wurden unter allen aseptischen Cautelen nach den Koch'schen Vorschriften, in eine Hauttasche der genannten Thiere eingebracht und die kleine Wunde darüber durch die Naht geschlossen. Innerhalb 24—48 Stunden entwickelte sich dann bei den Thieren regelmässig ein typischer Milzbrand und nachdem der Tod erfolgt war, bot ebenso die Section alle dem Milzbrand zukommenden pathologischen Erscheinungen dar, indem an der Impfstelle eine leichte sulzige Infiltration des subcutanen Bindegewebes sich vorfand und im Blute und allen Organen Milzbrandbacillen in grosser Menge vorhanden waren. Ich mache hier nochmals darauf aufmerksam, dass das Blut der exquisit milzbrandkranken Thiere oft noch kurz vor dem Tode ganz hellroth gefunden wurde und dass die Milzbrandbacillen erst kurz vor dem Tode ins Blut gelangen; es wurden, um die diesbezüglichen Angaben der Autoren zu prüfen, sehr oft bei verschiedenen Thieren Blutproben aus den Ohrgefässen entnommen und es zeigte sich dabei, dass in der That erst ganz kurze Zeit vor dem Tode, manchmal erst 3—4 Stunden vorher, Bacillen in solchen Blutproben durch mikroskopische Untersuchung und Impfung auf Nährgelatine nachgewiesen werden konnte. Von kleinen runden, glänzenden

Körperchen, die Sommer, Bollinger, Feser, Archangelski, Roloff und Osol als Vorstufen der Milzbrandbacillen bezeichnen, habe ich nie eine Spur gesehen. Aus dem Blute der Milz, Leber und Lunge der gestorbenen Impfthiere oder auch wohl aus den genannten Organen der kurz vor dem ersichtlich bevorstehenden Exitus getödteten Thiere wurden mittelst der geglühten Platinnadel Impfungen auf Fleischinfuspeptongelatine, Agar-Agar und Blutserum gemacht. In diesen Nährlösungen keimten dann vollständige Reinculturen von Milzbrandbacillen. Die Fleischinfusgelatine wird bei Zimmertemperatur rasch verflüssigt. Die Verflüssigung beginnt von Oben und ist hier zunächst am stärksten, indem sich weissliche Wolken bilden, die sich längs des ganzen Impfstiches fortsetzen, bis die ganze Gelatine bis zum Ende des Impfstiches verflüssigt ist. Die verflüssigte Gelatine wird darauf wieder vollständig klar und durchsichtig, während sich die Bacillen und Sporen an der Grenze der festen und flüssigen Gelatine oder am Boden des Reagenzglases als dickweisser Belag niedersetzen. Von den verflüssigten Partien gehen meist lange, horizontal gerichtete Fäden aus, die wiederum mit ihren Nachbarn anastastomosiren, so dass ein feines, netzähnliches Gerüst entsteht. In ähnlicher Weise verflüssigend wachsen die Milzbrandbacillen auf Blutserum, während sie auf Agar-Agar einen weissgrauen trockenen, leicht abziehbaren Belag bilden. Seit dem Beginne dieser Arbeit, die vor $2^1/_2$ Jahren zuerst in Angriff genommen und seitdem stetig fortgeführt wurde, habe ich die auf die beschriebene Weise gezüchteten Milzbrandbacillen auf den genannten Nährlösungen, ferner auf Heu- und Brodinfusen, auf Kartoffeln, Fleisch und Eiern immer weiter cultivirt; sie passirten dabei sehr oft den Thierkörper, so dass ich ständig frisches, virulentes Material zur Verfügung hatte.

Meine Versuche, die Milzbrandbacillen auf den sogenannten künstlichen Nährflüssigkeiten zur Entwickelung zu bringen,

schlugen alle fehl, indem dieselben weder in der Pasteur'schen Lösung (destillirtes Wasser 100 Th., Candiszucker 10 Th., weinsaures Ammon 1 Th., Kaliumphosphat 0,5 Th.), noch in der Nägeli'schen Normalflüssigkeit (Wasser 100 ccm, weinsaures Ammoniak 1 gr, Dikaliumphosphat 0,1 gr, Magnesiumsulfat 0,02 gr, Calciumchlorid 0,01 gr), wuchsen. Die Milzbrandbacillen scheinen demnach nicht die Fähigkeit zu besitzen, die zu ihrem Gedeihen nöthige Nahrung aus diesen einfachen chemischen Verbindungen entnehmen zu können, ebensowenig sind sie dann aber im Stande, aus den genannten Körpern auf synthetischem Wege giftige Körper zu bilden. Um nun meiner oben gestellten Aufgabe näher zu kommen, d. h. also zu eruiren, ob beim Wachsthum der Milzbrandbacillen auf complicirten chemischen Verbindungen toxische Produkte aus diesen abgespalten würden, liess ich die Milzbrandbacillen weiterhin auf sterilisirtem Fleischbrei wachsen. Ich wählte diesen deshalb, weil sich das Fleisch bei Gewinnung der Fäulnissalcaloide als eine gute Fundgrube erwiesen hatte und weil im Fleisch die hochgestellten organischen Verbindungen vorhanden sind, die aller Wahrscheinlichkeit nach die Muttersubstanz der Alcaloide bilden. Da es ziemlich schwer ist, Fleischbrei sicher zu sterilisiren, gebe ich im Folgenden genau mein Vorgehen an. Ganz frisches, fein zerhacktes Fleisch wurde abgewogen und jedesmal 125 Gramm desselben in einen im Trockenschrank sterilisirten, mit Wattepfropf versehenen Literkolben gefüllt. Zu dem Fleisch wurde dann soviel destillirtes sterilisirtes Wasser hinzugesetzt, dass nach gehörigem Umschütteln ein dünner Brei entstand, indem die Fleischklümpchen im Wasser schwammen; ein stärkerer Ueberschuss von Wasser wurde vermieden. Die so präparirten Kolben wurden nun mindestens 8 Tage lang mehrere Stunden lang im Koch'schen Dampfsterilisationsapparat sterilisirt. Beim Erkalten der Kolben scheidet sich auf der Oberfläche des Breies reichlich Fett aus; war dasselbe zu stark

vorhanden, so wurde es mit einem sterilisirten Löffel abgeschöpft, da sonst die dicke geronnene Fettschicht die Entwickelung der Bacillen stört. Nach 8tägigem Verweilen der Kolben im Dampfsterilisationsapparat wurden sie für 24 Stunden in den Vegetationskasten bei 37° gehalten, um die in dem Fleisch eventuell noch vorhandenen Keime zur Entwickelung zu bringen, worauf sie wieder für 3 — 4 Tage im Dampfsterilisationsapparat den strömenden Wasserdämpfen ausgesetzt wurden.

Nur auf diese Weise gelang es mir vollständig bacterienfreien Fleischbrei zu erzielen, bei Unterlassung der peinlichsten Sorgfalt entwickelte sich in den Kolben eine unaufhaltsame Fäulniss. Der sterilisirte Fleischbrei hat eine graubräunliche Farbe, die einzelnen Fleischpartikelchen sind zu mehr weniger festen Klümpchen erstarrt und schwimmen in dem umgebenden Wasser. Von der gelungenen Sterilisation überzeugte ich mich jedesmal durch Controllimpfungen auf Nährgelatine, sie gibt sich ausserdem dadurch kund, dass man die sterilisirten Kolben monatelang aufbewahren kann, ohne dass sie sich im mindesten verändern oder gar Fäulnisserscheinungen zeigen. Mit Milzbrandbacillen wurden nun bloss solche Kolben geimpft, die mindestens 14 Tage bis 4 Wochen nach vollendeter Sterilisation bei 37° im Brutkasten gestanden hatten, ohne sich zu verändern und bei denen ausserdem noch wiederholte Controllimpfungen auf Nährgelatinen die vollständige Bacterienfreiheit bewiesen hatten. Die Impfung des Fleischbreies mit Bacillen geschah entweder mit der geglühten Platinnadel, welche die in den Reagenzgläsern gezüchtete Reincultur übertrug, oder es wurde auch wohl der Brei zur sofortigen besseren Verbreitung der Milzbrandbacillen auf ihm mit einer in sterilisirtem Wasser aufgeschwemmten Reincultur der Bacillen übergossen. Die geimpften Kolben wurden im Brutkasten bei 37° gehalten und mehrmals täglich umgeschüttelt, damit die Bacillen überall hingelangen konnten. Die Milzbrandbacillen entwickeln sich auf

dem Fleischbrei in der Weise, dass sie die einzelnen Fleischklümpchen umwachsen und dieselben aufzehren; auf festeren Partikelchen bilden sie auch wohl einen abhebbaren weisslichen Ueberzug in ähnlicher Weise wie sie denselben auf Agar-Agar erzeugen; das umgebende Wasser, in welches ja auch Nährstoffe übergegangen sind, trübt sich anfangs, wird dann später wieder klar, indem sich die Sporen und Bacillen zu Boden setzen und dort einen mehr weniger dicken Satz bilden. Aus den inficirten Kolben steigt nach 2 — 3 Wochen beim Lüpfen der Watte ein eigenthümlich süsslicher, an Fettsäuren erinnernder Geruch auf. Es wurden natürlich zu den folgenden Untersuchungen nur solche Kolben benutzt, bei denen nach mehrwöchentlichem Verweilen im Brutkasten die Controllimpfung zeigte, dass wirklich einzig und allein Milzbrandbacillen in typischer Reincultur gewachsen waren; ich nenne diese Kolben der Kürze wegen Milzbrandkolben.

III.

Darstellung des Milzbrandalcaloides nach der Stas-Otto'schen Methode.

Das Verfahren, welches heutzutage bei gerichtlich-chemischen Untersuchungen zur Aufsuchung von Alcaloiden benutzt wird, ist das ursprünglich von Stas angegebene, von Otto modificirte und nach beiden das Stas-Otto'sche Verfahren genannte. Es gründet sich darauf, das die Alcaloide saure Salze bilden, die von Wasser und Weingeist gelöst werden und dass die neutralen und sauren Salze der Alcaloide in Aether unlöslich sind, dass also mit nur wenigen Ausnahmen Alcaloidsalze nicht in Aether übergehen, wenn man eine neutrale oder saure Lösung desselben mit Aether schüttelt. Macht man aber diese Lösung mit Natronlauge alcalisch, um das Alcaloid in Freiheit zu

setzen und schüttelt nun mit Aether oder Amylalcohol aus, so werden die Alcaloide von dem Aether oder Amylalcohol aufgenommen. Eine weitere Methode zur Isolirung von Ptomainen ist, wie in der Einleitung erwähnt, von Brieger ausgebildet worden, der in dem alcoholischen Quecksilberchlorid ein vorzügliches Mittel zur Trennung der Alcaloide erkannte und schon eine Reihe wohlcharakterisirter Fäulnissptomaine dargestellt hat. Diesen beiden Methoden, der Stas-Otto'schen und Brieger'schen, bin ich bei meinen Untersuchungen zur Auffindung eines Milzbrandalcaloides gefolgt und habe dann weiterhin noch nach einer anderen Methode gearbeitet, die Herr Professor E. Fischer so freundlich war mir anzurathen. Wenn ich nun zur Beschreibung meiner nach diesen drei Methoden gewonnenen Resultate übergehe, so erwähne ich sogleich, dass ich durch dieselben ein Alcaloid gefunden habe, welches, wenn es auch nicht allen chemischen Anforderungen entsprechend rein dargestellt werden konnte, doch augenscheinlich einzig und allein dem Lebensprocess der Milzbrandbacillen auf dem sterilisirten Fleisch sein Dasein verdankt.

Ich wende mich zunächst zu der Versuchsreihe, welche aus den Milzbrandkolben nach der Stas-Otto'schen Methode das Alcaloid zu isoliren suchte und gebe im Folgenden das Specielle des Verfahrens.

Der alcalisch reagirende Inhalt der Kolben wurde mit dem doppelten Gewichte möglichst starken, fuselfreien Weingeistes übergossen. (Da der gewöhnliche, durch Destillation über Kalk gereinigte Aethylalcohol des Handels fast stets kleine Mengen von alcaloidischen Substanzen enthält, so hat man ihn vorher 1 bis 2 mal unter Zusatz von Weinsäure, welche die Basen zurückhält, zu rectificiren.) Zu der alcoholischen Lösung wird Weinsäure bis zur deutlich sauren Reaction hinzugesetzt und die Kolben dann bei gelinder Wärme digerirt. Durch wieder-

holtes Umschütteln der Massen und wiederholtes Erneuern des Alcohols mit Zusatz von Weinsäure wird möglichst quantitativ extrahirt. Nach dem Erkalten werden die gesammelten und vereinigten Alcoholauszüge filtrirt und das Filtrat auf dem Wasserbad bis zur vollständigen Verflüchtigung des Alcohols eingedampft. Bei dem Verdunsten des Alcohols scheiden sich gleichfalls in demselben gelöste Fette und harzige Stoffe aus; von diesen filtrirt man die rückständige, nunmehr wässerige Flüssigkeit durch ein mit Wasser angefeuchtetes Filter ab, wäscht tüchtig mit Wasser nach und dampft dann Filtrat und Waschwasser bis zur Syrupconsistenz ein. Der beim Verdampfen der wässerigen Flüssigkeit bleibende Rückstand wird, nach und nach, mit absolutem Alcohol verdünnt, dann setzt man noch tropfenweise so lange Alcohol hinzu, bis keine Fällung mehr eintritt. Uebergiesst man den Rückstand sogleich mit viel Alcohol, so ist ein vollständiges Ausziehen nicht zu erreichen, indem der Rückstand sich dann zu einem zähen Klumpen zusammenballt. Der alcoholische Auszug wird nunmehr durch ein mit Alcohol benetztes Filter geklärt, dann verdunstet und der bleibende, schwach saure Rückstand in wenig Wasser gelöst. Man hat so eine wässerig-weinsaure Lösung erhalten. Dieselbe wird weiterhin mit Natronlauge alcalisch gemacht, um die Alcaloide in Freiheit zu setzen und dann mit Aether und Amylalcohol extrahirt. Maas hat auf Anrathen von Wislicenus bei seinen Versuchen weiterhin noch mit Chloroform und Petroleumäther ausgezogen und dadurch die in diese Mittel übergehenden Ptomaine isolirt.

Wenn wir nun unsere Milzbrandkolben nach dieser Methode bearbeiteten, so ergab die letztgenannte wässerig-weinsaure Lösung in allen Fällen die allgemeinen Alcaloidreactionen und erwies sich ebenso stets als sehr giftig. Unter den allgemeinen Alcaloidreactionen versteht man solche Reactionen, welche die wässerigen, eventuell durch

eine Spur Salzsäure bewerkstelligten Lösungen der Alcaloidsalze mit einigen Reagentien (Gruppenreagentien) geben. Ich benutzte stets folgende derselben: Phosphormolybdänsäure, Phosphorwolframsäure, Phosphorantimonsäure, Kaliumwismuthjodid, Kaliumkadmiumjodid, Lugol'sche Jodlösung, Tanninlösung, Pikrinsäurelösung, Platinchloridlösung, Goldchloridlösung, Quecksilberchloridlösung. Die wässerig-weinsaure Lösung ergab nun mit diesen Reagentien folgende Niederschläge:

Platinchlorid	gelblicher Niederschlag.
Phosphormolybdänsäure	amorpher gelber Niederschlag, der nach einiger Zeit bläulich-grün wird.
Lugol'sche Jodlösung	bräunliche Fällung.
Tanninlösung	weisser, körniger Niederschlag.
Phosphorwolframsäure	weisses Präcipitat.

Dem thierischen Organismus einverleibt, erwies sie sich als sehr giftig; ich führe dafür nachstehende Belege an:

Die aus 3 Kilo Fleisch erhaltene wässerig-weinsaure Alcaloidlösung wurde zu folgenden Versuchen benützt.

Versuch 1, 2 und 3.

3 grossen Fröschen wurden am 21. I. 85 je 1 gr der genannten Lösung in den dorsalen Lymphsack injicirt, 4,15 Uhr Mittags.

4,20 Uhr. Die Frösche sind vollständig reactionslos, lassen sich ruhig auf den Rücken legen, nehmen alle möglichen unnatürlichen Positionen an; keine Reflexe mehr, Herzaction langsam und unregelmässig. Pupillen weit.

4,30 „ Der Sopor ist unmittelbar in den Exitus übergegangen, nachdem einige krampfhafte Zuckungen vorausgegangen waren. Das Herz zeigt sich systolisch contrahirt.

Versuch 4.

Einem 1800 gr schweren Kaninchen, das eine Rectumtemperatur von 39,8 C. zeigte, wurden am 22. I. 85 Mittags 5 Uhr 5 gr derselben Lösung injicirt.

5,05 Uhr. Thier sehr unruhig, läuft hin und her.

5,10 „ Athmung beschleunigt, Rectumtemperatur 40,3, Parese der hintern Extremitäten.

5,20 Uhr. Starke dyspnoische, keuchende Athmung, Rectumtemperatur 39,0, soporöser Zustand.
5,25 „ Vollständiges Coma, Thier ganz reactionslos.
5,27 „ Abgang blutigen Stuhles, reichliche Urinentleerung.
6,30 „ Nachdem das Thier über 1 Stunde in dem soporösen Zustand dagelegen hatte, nähern sich die Respirationsbewegungen wieder der Norm, das Kaninchen reagirt wieder langsam auf Reize, ist jedoch auch am nächsten Morgen noch nicht wieder ganz hergestellt.

Versuch 5.

Eine weisse Maus erhält am 22. III. 86, Abends 6 Uhr 1 gr einer in gleicher Weise hergestellten wässerig-weinsauren Lösung subcutan injicirt.

6,05 Uhr. Sopor, starke Dyspnoe.
6,08 „ Exitus nach kurz dauernden asphyctischen Krämpfen.

Versuch 6.

Ein starkes Meerschweinchen erhält am 23. III. 86 Mittags 4 Uhr 5 gr der letztern Lösung injicirt.

4,05 Uhr. Thier wird sehr unruhig, beschleunigte Herzthätigkeit und Athmung.
4,10 „ Beginnendes Sopor, Athmung wird keuchend.
4,25 „ Vollständiges Sopor, unregelmässige, dyspnoische Respiration.
5,20 „ Während das Thier ganz reactionslos mit höchster Athemnoth daliegt treten einige krampfhafte Zuckungen und kurz darauf der Tod ein.

Das Herz zeigt sich systolisch contrahirt, Blut dunkelfarbig, im Peritonealraum ein blutig-wässeriger Erguss.

Ich könnte diesen Versuchen noch eine grosse Reihe unter gleichen Bedingungen und mit gleichen Resultaten ausgeführter weiterer Experimente zufügen, begnüge mich jedoch mit den genannten und will nur noch erwähnen, dass es bei Injection grösserer Dosen von 6—8 gr auch gelang, grosse Kaninchen unter den gleichen Erscheinungen zu tödten. Das Ergebniss aller dieser Versuche ist der Nachweis eines durch die allgemeinen Alcaloidreactionen als Alcaloid erkannten sehr giftigen Körpers in unserer wässerig-weinsauren Lösung. Warmblütern injicirt, ruft dieses Gift zunächst eine allgemeine Unruhe hervor, die jedoch bald einem soporösen Zustand Platz macht; Frösche verfallen sofort in

einen völlig reactionslosen, curareähnlichen Zustand. Bei Warmblütern sind Athmung und Herzthätigkeit zuerst beschleunigt, dann werden beide unregelmässig und die Athmung wird so erschwert, dass nur mit Zuhülfenahme der accessorischen Athemmuskeln die Respiration noch von Statten geht; es treten dann asphyctische Krämpfe ein, die mit dem Tod der Versuchsthiere enden.

Wenn Maas bei seinen Versuchen die aus den gefaulten Massen erhaltene wässerig-weinsaure Lösung mit Natronlauge alcalisch machte und dann mit Aether, Amylalcohol, Chloroform und Petroleumäther auszog, so erhielt er 3 verschiedene Alcaloide, die curare-, morphium- und strychninartige Wirkungen zeigten. Maas führte dies auf die Thatsache zurück, dass beim Process der Fäulniss eine grössere Anzahl von differenten Microorganismen betheiligt sind und glaubt, dass jedem einzelnen dieser Bacterien ein bestimmtes Alcaloid zukommt. Ebenso glaubte Maas (l. c.) in Uebereinstimmung mit Billroth u. A., dass nach Infection sterilisirter Muskeln mit Reinculturen bestimmter pathogener Bacterien diese in dem genannten Fleisch der Qualität und Quantität nach ganz bestimmte, nur ihnen allein zukommende Alcaloide erzeugen würden. Diese Ansicht von Maas hat sich für unsern Fall vollkommen bestätigt. Wenn ich die weinsaure-wässerige Lösung mit Natronlauge alcalisch gemacht hatte und dieselbe nun mit Aether oder Amylalcohol auszog, so erhielt ich stets nur ein und zwar immer dasselbe Alcaloid. Dasselbe war in Aether und Amylalcohol löslich und ging nicht oder nur spurweise in Amylalcohol über, wenn zuvor sorgfältig mit Aether extrahirt worden war und umgekehrt.

Es erscheint mir diese Thatsache von grosser Bedeutung, dass es ein einheitliches Gift ist, das die Milzbrandbacillen erzeugen; unser Gift zeigte vollständig differente Wirkungen von den Symptomen,

die nach Brieger das Alcaloid der Typhusbacillen erzeugt, so dass wir wohl annehmen müssen, dass jeder pathogene Microorganismus sein, wenn wir so sagen wollen, „specifisches“ Alcaloid erzeugt; es wäre uns damit eine Erklärung für die so differenten Symptome der Infectionskrankheiten gegeben.

Ich führe nunmehr meine Versuche an, die auf die Isolirung des Alcaloides durch Ausschütteln der alcalisch gemachten wässerig-weinsauren Lösung mit Aether und Amylalcohol hinzielten.

Aus 2 Kilo Fleisch, auf dem die Milzbrandbacillen 4 Wochen gewachsen waren, wurde die wässerig-weinsaure Lösung dargestellt; dieselbe wurde mit Natronlauge alcalisch gemacht und nun mehrmals mit reinem Aether ausgeschüttelt. Die gesammelten Aetherauszüge wurden in der Weise verdunstet, dass die abdestillirten Mengen in einer einige Tropfen Salzsäure enthaltenden Vorlage aufgefangen wurden. Es sollte auf diese Weise untersucht werden, ob beim Abdestilliren des Aethers ein flüchtiges Alcaloid mitüberginge, es war dies jedoch nicht der Fall. Nach vollständiger Verflüchtigung des Aethers blieb jedoch in der ersten Retorte eine stark alcalisch reagirende, an den Wänden als gelblich-brauner Belag haftende Base in der Menge von 0,03 gr. zurück. Mit Salzsäure versetzt, lieferte diese Base ein krystallinisches, in Wasser leicht lösliches Salz, das folgende Alcaloidreactionen zeigte:

Platinchlorid	gelblicher Niederschlag.
Lugol'sche Jodlösung	bräunlich-gelber Niederschlag.
Phosphorwolframsäure	weisse Fällung.
Kaliumquecksilberjodid	goldgelber Niederschlag.
Acidum picronitricum	hellgelber Niederschlag.

Tanninlösung	weisser körniger Niederschlag.
Phosphorantimonsäure	voluminöses weisses Präcipitat.
Phosphormolybdänsäure	starker gelber Niederschlag.
Quecksilberchlorid	weiss-gelblicher Niederschlag.

Auf den thierischen Organismus wirkte dieses Aetheralcaloid in ähnlicher Weise wie die wässerig-weinsaure Lösung; es mögen dies folgende Experimente beweisen, die angestellt wurden, nachdem das oben genannte Salz in 15 ccm Wasser gelöst worden war.

Versuch 7 und 8.

2 grosse Frösche erhalten je 1 gr dieser Lösung (also 0,002 des Alcaloides) in den dorsalen Lymphsack injicirt, 5. II. 85, Mittags 3 Uhr. Fast unmittelbar nach der Injection liegen beide Frösche ganz reactionslos da und der Sopor geht nach Verlauf weniger Minuten in Exitus über. Das Herz zeigt sich systolisch contrahirt.

Versuch 9.

1 grosser Frosch erhält $^1/_4$ gr der Lösung in gleicher Weise injicirt. Es wiederholen sich die genannten Symptome und nach einer Stunde ist der Tod eingetreten.

Versuch 10.

Ein starkes Meerschweinchen erhält 2 gr der Lösung subcutan injicirt, 6. II. 85, Mittags 4 Uhr.

4,05 Uhr. Thier sehr unruhig.
4,10 „ Athmung beschleunigt, Paralyse der Extremitäten, beginnender Sopor.
4,30 „ Vollständiger Sopor und starke Dyspnoe.
5,40 „ Athmung wird regelmässiger, blutig-wässeriger Stuhl.
5,50 „ Schwache Bewegungsversuche.
6,30 „ Thier hat sich wieder erholt.

Versuch 11.

Ein grosses Kaninchen mit einer Rectumtemperatur von 39.9 C. erhält am 10. III. 86, Mittags 3 Uhr 6 gr einer in gleicher Weise dargestellten Lösung subcutan injicirt.

3,05 Uhr. Thier sehr unruhig, beschleunigte Athmung.
3,15 „ Starke Dyspnoe, Rectumtemperatur 40,5, langsame Reaction auf Reize.
3,30 „ Sopor, Pupillen weit, Athmung unregelmässig, Rectumtemperatur 39,1 C.

3,35 Uhr. Reichlicher blutig-wässeriger Stuhl.

3,40 „ Heftige dyspnoische Krämpfe, die zum Tode führen.

Die Section ergibt das Blut dunkelfarbig, im Pericard- und Peritonealraum ein geringer blutig-wässeriger Erguss, auf dem Pericard und Peritoneum zahlreiche Ecchymosen, das Herz contrahirt.

Nachdem die Reste des Aethers in der vorherbeschriebenen, mit Aether ausgezogenen, alcalisch gemâchten „wässerig-weinsauren" Lösung auf dem Wasserbade verdampft worden waren, wurde dieselbe weiterhin mit Amylalcohol extrahirt; es resultirte jedoch nach Verdampfung des Letztern keine toxische Substanz. Wurde dagegen die alcalisch gemachte Lösung nicht mit Aether, sondern sofort mit Amylalcohol extrahirt, so ergab der nach Verdunstung des Amylalcohols zurückbleibende, amorphe, braune Rückstand, aus dem das salzsaure Salz dargestellt wurde, wiederum giftige Eigenschaften. Ich führe dafür folgende Versuche an, zugleich mit dem Hinweis, dass die Alcaloidreactionen die gleichen waren, wie bei dem Aetheralcaloid.

2 Kilo Fleischbrei, auf dem die Milzbrandbacillen 5 Wochen gewachsen waren, ergaben 0,497 gr des salzsauren Amylalcoholalcaloides. Dieselben wurden in 15 ccm Wasser gelöst und wie folgt verwendet.

Versuch 12.

Ein grosser Frosch erhält $^1/_2$ gr der Lösung in den dorsalen Lymphsack, 20. III. 85, Mittags 4 Uhr.

Fast momentan liegt das Thier reactionslos da und ist nach 10 Minuten todt, indem der Sopor unmittelbar in den Exitus übergeht.

Versuch 13.

Eine weisse Maus erhält 1 gr der Lösung subcutan injicirt, 20. III. 85, Mittags 5 Uhr.

Nach kaum 1 Minute heftige Dyspnoe, asphyctische Krämpfe und Exitus letalis.

Versuch 14.

Eine weisse Maus erhält $^1/_4$ gr der Lösung subcutan injicirt, 20. III. 85, Mittags 5,30 Uhr.

5,35 Uhr. Soporöser Zustand, heftige Athemnoth.

5,38 „ Dyspnoische Krämpfe.

5,40 „ Exitus letalis.

Versuch 15.

Ein grosses Meerschweinchen erhält 5 gr einer gleichen Lösung subcutan injicirt, 21. III. 86, Vormittags 12 Uhr.

12,03 Uhr. Thier sehr unruhig, Haare sträuben sich.
12,05 „ Beschleunigte Athmung, vermehrte Herzaction.
12,10 „ Dyspnoe stärker, beginnender Sopor.
12,15 „ Injection von 0,005 gr Atropin.
12,20 „ Athmung unregelmässig, es arbeiten alle Hülfsmuskeln, Thier ganz reactionslos.
12,25 „ Asphyctische Krämpfe.
12,27 „ Exitus letalis.

Versuch 16.

Ein grosses 2000 gr schweres Kaninchen erhält 6 gr der Lösung in die Bauchhöhle injicirt, 23. III. 86, Mittags 3 Uhr.

3,05 Uhr. Aeusserste Unruhe und Angst, Athmung sehr frequent, ebenso die Herzaction.
3,15 „ Sopor, heftige Dyspnoe.
3,20 „ Blutig-wässeriger Stuhl.
3,25 „ Aeusserste Athemnoth, Pupillen weit.
3,30 „ Exitus letalis nach kurzdauernden, krampfhaften Zuckungen.

Herz systolisch contrahirt, Blut dunkelfarbig, Ecchymosen auf der Serose des Darmes.

Ueberblicken wir das bisher Gesagte, so geht aus demselben hervor, dass durch die Stas-Otto'sche Methode aus sterilem Fleischbrei, auf dem Milzbrandbacillen gewachsen waren, giftige Alcaloide dargestellt wurden. Es fragt sich nun, ob dieselben nicht auch schon aus normalem sterilisirtem Fleischbrei, der in gleicher Weise nach Stas-Otto behandelt wurde, gewonnen werden konnten. Es wurden zu dem Zweck wiederholt Controllversuche gemacht, meist in der Weise, dass inficirte und nicht inficirte Fleischbreikolben neben einander verarbeitet wurden. Es ergab sich dabei, dass die aus normalem Fleisch dargestellte wässerig-weinsaure Lösung geringe Mengen von Pepton enthielt, dass jedoch aus derselben durch Extraction mit Aether und Amylalcohol keine giftigen Alcaloide erzielt werden konnten. Es könnte dann weiterhin eingewendet werden, dass die giftigen

Produkte schon in dem Aether und Amylalcohol vorhanden gewesen wären, da ja beide Extractionsmittel oft sehr stark mit alcaloidischen Substanzen verunreinigt sind. Um diesem Einwurfe zu begegnen, wendete ich zur Extraction stets nur solchen Aether und Amylalcohol an, den ich selbst vorher mit Weinsäure abdestillirt hatte und wurden ausserdem Controllversuche in der Weise angestellt, dass dieselben Mengen von Aether und Amylalcohol, wie sie zum Ausschütteln benutzt wurden, abgedampft wurden, ohne dass sie vorher zur Extraction verwendet worden wären. Es blieben dabei beim Aether einige ölige Tropfen und beim Amylalcohol geringe Mengen einer amorphen schwach gelblich gefärbten Substanz zurück, von einer giftigen Wirkung dieser Rückstände war jedoch keine Spur vorhanden. Ich muss daher annehmen, dass die nach der Stas-Otto'schen Methode aus den inficirten Kolben erhaltenen Alcaloide durch die Lebensthätigkeit der Milzbrandbacillen in dem Fleischbrei erzeugt worden sind. Es geht aber aus dem Gesagten wohl zur Genüge hervor, dass ich mir bewusst bin, nicht mit chemisch-reinen Körpern experimentirt zu haben, dass vielmehr den Alcaloiden andere, theils aus dem Aether, theils aus dem Amylalcohol stammende Beimischungen anhafteten. Da die erhaltene Ausbeute an Alcaloiden sehr gering war und es mir vorzugsweise darauf ankam, die physiologische Wirkung der gefundenen Basen zu erforschen, so habe ich auf eine Reindarstellung derselben, die bei den geringen Mengen mit erheblichen chemischen Schwierigkeiten verbunden sein dürfte, gleich von vorneherein Verzicht geleistet.

Nachdem ich den sterilisirten Fleischbrei als eine Quelle der Alcaloide kennen gelernt hatte, untersuchte ich nun weiterhin, ob Alcaloide auch beim Wachsthum der Milzbrandbacillen auf viel einfacher zusammengesetzten Nährböden entstehen, resp. sich nachweisen lassen. Ich verarbeitete deshalb nach

der Stas-Otto'schen Methode die verschiedensten Nährböden Infuse von Heu und Brod, Bouillon, Lösungen von Traubenzucker mit Zusatz von Liebig'schem Fleischextract — doch kam ich dabei zu keinem positiven Resultat. Es mag dies daher rühren, dass die Muttersubstanz der Alcaloide in diesen Lösungen fehlt oder zu spärlich vorhanden ist, oder, dass sich Alcaloide nur in so geringen Mengen in denselben bilden, dass sie sich dem Nachweise entzogen.

IV.

Versuche, das Milzbrandalcaloid nach der Brieger'schen Methode darzustellen.

Ich gehe nun dazu über, die Befunde mitzutheilen, die mir die Brieger'sche Methode lieferten. Es sind diese Versuche noch nicht abgeschlossen; ich glaube jedoch dieselben mittheilen zu dürfen, da sie immerhin schon einiges Interessante zu Tage gefördert haben. Ich wagte mich hier in ein Gebiet, das mir ziemlich fern liegt und nur der stets liebenswürdigen Unterstützung des Hrn. Privatdocenten Dr. Landwehr verdanke ich es, wenn ich zu den anzuführenden Resultaten gelangt bin. Meines herzlichen Dankes dafür ist er gewiss! Brieger's Verfahren ist Folgendes:

Durch vorsichtigen Zusatz von Salzsäure zu den zu verarbeitenden Massen werden die etwa in ihnen vorhandenen Basen in ihre salzsauren Salze übergeführt; in dieser Form erweisen sich die Ptomaine haltbar, wenn ein grösserer Ueberschuss von Salzsäure vermieden wird. Die gesammten Massen werden nun zu dicken Syrupen eingedampft und diesen die Ptomaine durch absoluten Alcohol entzogen; die alcoholischen Auszüge werden filtrirt, mit überschüssigem alcoholischen Quecksilberchlorid versetzt und 24 Stunden stehen gelassen. Der Quecksilberchloridniederschlag wird mit Wasser gekocht und

vom Unlöslichen abfiltrirt; durch diese Manipulation gelingt es, die in den Alcohol übergetretene Peptone und Albuminate zu eliminiren, da derartige Verbindungen selbst in kochendem Wasser absolut unlöslich sind, während die Quecksilberdoppelverbindungen der organischen Ammoniake (mit Ausnahme des Cholin) in kochendem Wasser löslich sind. Hat man so die Basen als in Wasser gelöste Quecksilberverbindungen in Händen, so wird das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt und durch Fällung mit Platinchlorid, Goldchlorid oder Picrinsäure die betreffenden Doppelsalze hergestellt.

Die bisherigen Untersuchungen liessen uns vermuthen, dass Cholin und Neurin, bei der Entstehung oder Darstellung der Ptomaine irgend welche Rolle spielen. Ich erinnere nur an die nahen Beziehungen anderer Alcaloide, z. B. des von macroscopischen Pilzen gelieferten Muscarins, das von Schmiedeberg als Oxycholin erkannt und synthetisch dargestellt wurde, zum Cholin. Dem Cholin kommt nach Bayer die Formel $C_5 H_{15} NO_2$ zu und ist dasselbe seiner Zusammensetzung nach Trimethyloxäthylammoniumoxydhydrat, das Neurin hat dagegen die Formel $C_5 H_{13} NO$ und ist als Trimethylvinylammoniumoxydhydrat zu betrachten, es hat also ein Wasser ($H_2 O$) weniger als das Cholin. Während die Oxäthylammoniumbase, das Cholin, als Bestandtheil des Lecithin (Diakonow) im thierischen Haushalt überall vertreten ist, wird das Vorkommen des Neurin, der Vinylbase nur von Liebreich in dem Protagon des Gehirns angenommen. In der Vermuthung, dass sich das Cholin als Ptomainbildner betheiligen könne, wählten wir als Nährböden zu den folgenden Versuchen nicht Fleischbrei, sondern ein sehr lecithinreiches Gewebe — das Eigelb. — Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt.

In je einen möglichst weithalsigen halben Literkolben, der mit Wattepfropf versehen im Trockenkasten sterilisirt worden war, wurden 4 frische Eierdotter und 10 Ccm sterilisirtes Wasser

gefüllt, der Inhalt der Kolben dann gehörig geschüttelt, bis eine gleichmässige Emulsion entstanden war und die Kolben nun fractionirt sterilisirt. Zu dem Zwecke wurden sie in einen auf 60° C. eingestellten Thermostaten gestellt und in demselben für 3—4 Tage gehalten, um eine Entwicklung der etwa eingedrungenen Keime zu verhindern oder dieselben möglichst abzutödten. Nach Ablauf dieser Zeit wurden die Kolben dann weiterhin für 1—2 Stunden in dem Brutkasten bei 37° gehalten und dann sofort wieder in den ersten Thermostaten gestellt. Die noch lebensfähigen Keime werden dadurch zur Entwicklung gebracht und sogleich wieder abgetödtet. Durch 3—4maliges Wiederholen dieser Procedur und bei möglichster Sorgfalt bei Einfüllung der Eidotter in die sterilisirten Kolben gelingt es, das Eigelb vollständig sicher bacterienfrei zu halten, ohne es aufzukochen. Ich will noch erwähnen, dass die Eier, die verwendet wurden, mit Sublimat gereinigt worden waren, um während des Momentes der Isolirung des Eidotters möglichst Bacterienkeime von denselben fern zu halten. Die gelungene Sterilisation des Eigelb wurde stets durch Controllimpfung auf Nährgelatine bewiesen; das Eindringen von Keimen in das Eigelb verräth sich ausserdem meist bald, indem dasselbe rasch seine Farbe verändert, und sich entweder röthlich oder bei vorhandener Fäulniss grünlich färbt, wobei dann sehr bald Gasblasen entstehen und ein intensiver Gestank sich verbreitet. Waren die Kolben mehrere Wochen steril geblieben, so wurden sie nunmehr mittelst der Platinnadel mit einer Reincultur von Milzbrandbacillen geimpft und dann im Brutkasten bei 37° C. gehalten. Da nach Brieger und Nencki Sauerstoffzutritt die Ausbeute an Ptomainen erhöhen soll, so wurden die Kolben mehrmals täglich umgeschüttelt. Das Eigelb, auf dem sich die Milzbrandbacillen reichlich entwickelt hatten, verändert seine Farbe nicht wesentlich, dagegen steigt beim Lüpfen der Watte aus den inficirten Kolben der charakteristische süssliche Geruch hervor.

Wenn ich die so vorbereiteten Kolben, die 2—5 Wochen im Brutkasten verweilt hatten, nach der vorher geschilderten Brieger'schen Methode verarbeitete, also zunächst Salzsäure zusetzte, so verhinderte dieser Zusatz von Salzsäure das Gerinnen des Eigelb beim nachherigen Kochen; in Folge dessen gingen in die alcoholische Lösung stets Peptone mit über und bei der Fällung der alcoholischen Lösung mit alcoholischer Quecksilberchloridlösung war der Niederschlag ein sehr flockiger. Die Platinbestimmungen der auf diese Weise erzielten Basen ergaben sehr niedrige Werthe, indem sie nur einen Gehalt von 21,9 und 22,1% Pt. zeigten; ob dieselben giftig waren, konnte bei der geringen Ausbeute nicht ermittelt werden. Aus dem eben genannten Grund vermied ich den Zusatz von Salzsäure zu dem Kolbeninhalt, zumal da dabei auch alle Xanthinkörper in Lösung und später in den Alcohol gelangen können, ich wendete vielmehr auf Anrathen Landwehr's folgendes Verfahren an, das ich gleich an einem typischen Versuch schildere. Das in 6 Kölbchen inficirte Eigelb (also 24 Eigelb) wurde zunächst möglichst quantitativ mit Aether und Alcohol extrahirt. Die gesammelten Aether und Alcoholauszüge wurden abdestillirt und der Rückstand kurze Zeit, höchstens 10 Minuten, mit Barytwasser gekocht. Der Baryt wurde durch Einleiten von Kohlensäure entfernt, durch Zusatz von Salzsäure eine schwachsaure Reaktion hergestellt und nun mit absolutem Alcohol extrahirt; diese filtrirte alcoholische Lösung wurde dann erst mit alcoholischer Quecksilberchloridlösung gefällt und jetzt der geschilderte Brieger'sche Gang weiter fortgeführt. Der Quecksilberniederschlag wurde demnach nach 24 Stunden in Wasser gekocht und dieses siedend filtrirt. Beim Erkalten der Flüssigkeit schied sich ein starker krystallinischer Bodensatz ab, während, wie die allgemeinen Alcaloidreactionen zeigten, in der Flüssigkeit selbst noch eine Base gelöst blieb. Geringe Mengen dieser Flüssigkeit Thieren injicirt, rief eine stark muscarinartig wirkende

tödtliche Vergiftung herbei. Der abgeschiedene weisse Bodensatz wurde nach 24 Stunden durch Filtration von der wässerigen Lösung getrennt und beide dann gesondert weiter behandelt. Aus Beiden wurde zunächst, nachdem der Quecksilberniederschlag in Wasser aufgenommen worden war, durch Schwefelwasserstoff das Quecksilber entfernt, das Schwefelquecksilber durch Filtration abgeschieden, das Wasser verdampft, der Rückstand in absolutem Alcohol aufgenommen und diese filtrirte alcoholische Lösung mit alcoholischer Platinchloridlösung gefällt. Nachdem die Platindoppelsalze durch wiederholtes Umkrystallisiren gereinigt worden waren, wurden die Platinbestimmungen gemacht, welche folgende Werthe ergaben:

Betrachten wir zunächst die in Wasser unlösliche Base, so erwies sich dieselbe nach folgenden Angaben als Cholin.

Gefunden	Cholin verlangt
32,07 % Pt.	31,87 %

Die Reactionen waren folgende:

Phosphorwolframsäure	weisser Niederschlag, im Wasser unlöslich, beim Stehen crystallinisch werdend.
Phosphormolybdänsäure	voluminöser Niederschlag.
Phosphorantimonsäure	weisser, käsiger Niederschlag.
Kaliumquecksilberjodid	gelbliches, crystallinisches Präcipitat.
Jod-Jodkalium	brauner körniger Niederschlag.
Quecksilberchlorid	weisser körniger Niederschlag.
Gerbsäure	keine Fällung.
Ferricyankalium und Eisenchlorid	leicht blaue Färbung.

Es stimmen diese Reactionen vollständig mit den von Brieger angegebenen, nur fand ich stets im Gegensatz zu diesem Autor eine schwache blaue Färbung mit Ferricyankalium und Eisenchlorid. Ich will hier gleich erwähnen, dass

ich mir zu später zu beschreibenden Versuchen auf die eben angegebene Weise reines Cholin dargestellt habe und dass dieses Cholin stets schwach muscarinartige giftige Wirkungen zeigte.

Die Platinbestimmung der in Wasser löslichen Base ergab einen Gehalt von 33,59 % Pt. Es musste uns dies sofort darauf aufmerksam machen, dass wir es möglicherweise mit Neurin zu thun hatten, das nach Brieger 33,96 % Pt. verlangt. In der That stimmten denn auch, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, die Alcaloidreactionen genau mit denen des Neurin überein, so dass wohl kein Zweifel darüber herrscht, dass die genannte giftige Base Neurin war.

Phosphormolybdänsäure	weisser, krystallinischer Niederschlag.
Phosphorwolframsäure	kein Niederschlag.
Phosphorantimonsäure	weisser voluminöser Niederschlag.
Kaliumquecksilberjodid	weissgelber voluminöser Niederschlag.
Jodjodkalium	braunes amorphes Präcipitat.
Gerbsäure	schmutzig-weisser voluminöser Niederschlag.
Quecksilberchlorid	weisser körniger Niederschlag.

Schon dachte ich das Neurin als ein Produkt der Milzbrandbacillen auffassen zu müssen, da es normal ja nur im Gehirn vorkommen soll! Allein Controllversuche an ganz normalem Eigelb, das vollständig in der gleichen Weise wie das inficirte behandelt wurde, ergaben, dass das Neurin auch in diesen ganz normalen Eiern neben dem Cholin vorkommt. So ergab die Platinbestimmung:

für Cholin aus normalem Eigelb einen Gehalt von 31,91 %
(Berechnet 31,87 % Pt.)

für Neurin aus normalem Eigelb einen Gehalt von 33,56 %
(Berechnet 33,96 % Pt.)

Die Fällung der aus dem Eigelb vom Alcohol aufgenommenen salzsauren Basen durch die alcoholische Queck-

silberchloridlösung hatte so zum Auffinden von Cholin und Neurin geführt, ein besonderes Milzbrandalcaloid konnten wir bisher aus dem Eigelb nicht darstellen. In der vom Quecksilberchloridniederschlage befreiten Lauge waren keine Ptomaine, wohl aber Peptone vorhanden, wie dies die Biuretreaction nachwies. Da diese Versuche nicht zu dem wünschenswerthen Resultat führten, versuchte ich den Einfluss der Milzbrandbacillen direct auf Cholin zu untersuchen, d. h. also zu eruiren, ob beim Wachsthum der Milzbrandbacillen auf reinem Cholin irgend welche Alcaloide aus diesem abgespalten würden. Zu dem Zweck stellte ich mir Cholin nach der Diakonow-Gram'schen und ebenso nach der Brieger'schen Methode dar. Die letztere Methode habe ich bereits oben beschrieben, das Verfahren Cholin nach der Diakonow-Gram'schen Methode darzustellen ist folgendes, ich schildere es gleich an einem entsprechenden Versuch:

50 Eidotter wurden mit Aether und warmen Alcohol extrahirt, der Aether-Alcohol abdestillirt und der Rückstand mit Barytwasser gekocht. Das Baryt wurde durch Einleiten von Kohlensäure gefällt, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Wärme zum Syrup eingedampft, der Rückstand mit Alcohol aufgenommen und die filtrirte alcoholische Lösung mit Platinchlorid gefällt. Das Platin wurde durch Schwefelwasserstoff entfernt und das salzsaure Cholin unter der Luftpumpe zur Crystallisation gebracht. Dieses Cholin zeigte sich nun äusserst giftig, schon die kleinsten Mengen Mäusen injicirt, erwiesen sich genügend, um sofort heftige Krämpfe und den Tod der Versuchsthiere herbeizuführen. Gram[55]) constatirte den gleichen Befund, vermochte jedoch nicht die Beimischung zum Cholin, welche so toxisch wirkte, zu isoliren. Nach unseren Untersuchungen ist diese Beimischung nichts Anderes als Neurin. Wir trennten beide Basen nach den Angaben Brieger's. Da nämlich die Quecksilberdoppelverbindung des Cholin in Wasser unlöslich ist, die

des Neurin dagegen löslich, so kochten wir das salzsaure Cholin in Wasser und es fiel richtig beim Erkalten das Cholin rein aus, während in dem Wasser Neurin gelöst blieb.

Die Platinbestimmung des Cholin ergab einen Gehalt von 31,87 % Pt. (Berechnet 31,87 % Pt.)

Die Platinbestimmung des Neurin ergab einen Gehalt von 33,83 % Pt. (Berechnet 33,96 % Pt.)

Ich erhielt so aus den 50 Eidottern 3 gr. reinen Cholins, während die Brieger'sche Methode aus ebensoviel Eidottern 6 gr. Cholin lieferte. Die überschüssige Salzsäure aus dem Brieger'schen Cholin wurde theils im Vacuum, theils durch frisch gefälltes Silberoxyd entfernt. Das so erhaltene Cholin wurde nun zu folgenden Versuchen verwendet:

6 gr salzsaures Cholin wurde in 40 Ccm Wasser gelöst und mit kohlensaurem Natron neutralisirt, wobei leider ein Theil der freien Base ausfiel. Die 40 ccm Wasser wurden nun zu gleichen Theilen in 2 sterilisirte Kölbchen gebracht und diese fractionirt sterilisirt, um das Kochen des Cholin zu vermeiden. Nach 8 Tagen wurde dann eines der Kölbchen mit Milzbrandbacillen geimpft und nun beide wieder im Brutkasten bei 37° C. gehalten. Es zeigte sich nun, dass die Milzbrandbacillen auf dem reinen Cholin absolut nicht gediehen. Die Nährlösung blieb ganz unverändert und erst nach einigen Tagen, als derselben etwas Bouillon hinzugesetzt war, entwickelten sich die Bacillen. Dass das Cholin von den Milzbrandbacillen nicht angegriffen worden war, ergab die Platinbestimmung, die vorgenommen wurde, nachdem der Inhalt beider Kölbchen abgedampft und die filtrirte alcoholische Lösung des Rückstandes mit Platinchlorid gefällt worden war.

Nicht inficirtes Kölbchen	Inficirtes Kölbchen
0,3787 % Substanz ergaben	0,3775 Substanz ergaben
31,87 % Pt.	31,54 % Pt.

Berechnet verlangt Cholin 31,87 %.

Ebensowenig wie Cholin ist reines Hühnereiweiss die Muttersubstanz der Ptomaine; ich schliesse das aus folgendem Versuch:

Das Eiweiss von 50 Eiern wurde fractionirt sterilisirt und mit Milzbrandbacillen geimpft. Die ursprünglich klare Lösung trübt sich beim Wachsthum der Bacillen, später fallen dann die Bacillen und Sporen zu Boden, bilden hier einen dichten Satz, während das darüber befindliche Eiweiss wieder klar wird. Dem Geruche nach zu urtheilen, müssen die Bacillen in dem Eiweiss flüchtige Fettsäuren entwickeln, Alcaloide entstehen jedoch nicht. Nach 5wöchentlichem Verweilen des Eiweisses im Brutkasten wurde dasselbe nach der Brieger'schen Methode bearbeitet, es resultirte jedoch in der alcoholischen Lösung weder durch alcoholische Quecksilberchloridlösung, noch durch Platinchlorid, noch durch Phosphormolybdänsäure irgend welche Fällung.

V.

Darstellung des Milzbrandalcaloides nach einer neuen Methode (E. Fischer).

Viel einfacher und sicherer zu einem guten Resultat führend, als die eben beschriebene Methode, bewährte sich mir nun bei meinen weiteren Untersuchungen ein Verfahren, das ich auf den Rath des Herrn Prof. E. Fischer befolgte. Es wurden diese jetzt zu beschreibenden Untersuchungen im chemischen Laboratorium des Herrn Prof. E. Fischer ausgeführt, wobei derselbe mir stets mit Rath und That an die Hand ging. Es ist mir an dieser Stelle eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Fischer für seine freundlichen Rathschläge und Controlle meiner Arbeiten, ebenso aber auch seinem Assistenten Dr. Wilh. Wislicenus für die mir stets geleistete Unterstützung meinen vorzüglichsten Dank abzustatten!

Der Stas-Otto'schen Methode zur Auffindung der Alcaloide haften verschiedene Nachtheile an; einmal ist man nicht ganz sicher, Kunstprodukte zu vermeiden, andererseits hindern sehr die Fette, die immer mit in den Alcohol gelangen, die reinliche Arbeit. Das Ausschütteln und das Verdampfen des Amylalcohol ist ausserdem sehr angreifend für die Respirationsorgane, doch konnten wir letzteren für unsere Zwecke entbehren, da ja unsere früheren Untersuchungen ergeben hatten, dass das Milzbrandalcaloid auch in Aether löslich ist.

Auf Anrathen des Herrn Prof. Fischer versuchte ich zunächst, den inficirten Fleischbrei direct mit Aether auszuschütteln, nachdem ich in demselben durch Zusatz von Natronlauge die eventuellen Basen freigemacht hatte. Ich kam jedoch auf diese Weise nicht zum Ziel, da in den Aether Peptone und andere Körper mit übergingen, die sich nicht von dem Alcaloide trennen liessen. Diese Beimischungen wurden nun sicher vermieden, wenn ich das eben erwähnte Fischer'sche Verfahren befolgte, es zeichnet sich dieses ausser durch die Sicherheit des Gelingens noch durch seine grosse Einfachheit vor der Stas-Otto'schen und Brieger'schen Methode aus.

Die inficirten Nährlösungen — ausser Fleischbrei wurden auch Bouillon, Traubenzucker- und Fleischextractlösungen untersucht — wurden direct mit Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuert und dann im Vacuum abgedampft. Es geschieht dies sehr rasch in der Weise, dass man die Kolben auf dem Wasserbade erwärmt, während sie vermittelst einer Wassersaugpumpe luftleer gesogen werden. Der nach dem Abdampfen im Kolben bleibende Rückstand wird mit absolutem Alcohol extrahirt, die alcoholische Lösung durch ein mit Alcohol benetztes Filter geklärt und sodann ebenfalls im Vacuum verflüchtigt. Man erreicht dadurch, dass alle Fette eliminirt werden und nimmt nun einfach die restirende Substanz in wenig Wasser auf. Durch Zusatz von Natronlauge macht

man in dieser wässerigen Lösung die Basen frei und schüttelt sie nun mit Aether aus.

Wenn ich in dieser Weise Fleischbrei untersuchte, auf dem die Milzbrandbacillen mehrere Wochen lang in Reincultur gewachsen waren, so erhielt ich nach Verdampfung des zur Extraction benutzten Aethers in allen Fällen als Rückstand eine stark alcalisch reagirende bräunlichgelb aussehende freie Base, die mit Salzsäure ein in Wasser leicht lösliches Salz bildete, die gleichen Alcaloidreactionen zeigte, wie das vorher beschriebene nach der Stas-Otto'schen Methode erhaltene Aetheralcaloid und auch ebenso giftig war als dieses. Da Controllversuche mit normalem Fleisch diese Base nicht lieferten, so ist dadurch meiner Ansicht nach der Beweis sicher geliefert, dass dieselbe ein Product der Milzbrandbacillen ist.

Diese Base chemisch näher zu untersuchen, erhielten wir nicht genug Material; es resultirten selbst bei Anwendung mehrerer Kilo Fleisch immer nur sehr geringe Quantitäten der Base, und diese wurden dann zu physiologischen Zwecken verwendet.

Zum Belege, dass die durch diese Base erzeugten giftigen Wirkungen dieselben waren, wie wir sie in den bereits mitgetheilten Thierexperimenten kennen gelernt haben, führe ich noch folgende Versuche an.

Aus 2 Kilo inficirtem Fleischbrei wurden 0,03 gr der Base erhalten. Das salzsaure Salz derselben wurde in 10 ccm Wasser gelöst.

Versuch 17.

Ein starkes Meerschweinchen erhält 4 gr dieser Lösung (also 0,012 gr des Alcaloides) subcutan injicirt, 15. XII. 85, Mittags 5 Uhr.

5,05 Uhr. Thier sehr unruhig, die Haare sträuben sich, Herzaction und Athmung beschleunigt.

5,10 „ Thier wird ruhig, theilnahmlos, Athmung langsamer, unregelmässiger.

5,10 „ Beginnender Sopor, stärkere Dyspnoe.

5,16 „ 0,0005 gr Atropin subcutan (bleiben ohne Einfluss).

5,20 Uhr. Aeusserste Dyspnoe, vollständige Reactionslosigkeit.
5,22 „ Tod nach einigen krampfhaften Zuckungen.

Die Section zeigt das Blut dunkelfarbig, das Herz contrahirt, auf dem Pericard Ecchymosen.

Versuch 18.

Ein 1800 gr schweres Kaninchen erhält 6 gr subcutan injicirt, 16. XII. 85, Mittags 5 Uhr.

5,05 Uhr Aengstliches Hin- und Herlaufen, Herzaction und Athmung beschleunigt.
5,25 „ Heftige Dyspnoe, dünner blutiger Stuhl, Sopor.
5,30 „ Vollständige Reactionslosigkeit, Athmung ganz unregelmässig.
5,35 „ Tod nach kurzen asphyctischen Krämpfen.

Die gleiche Base, in äusserst minimer Menge allerdings, wurde auch gewonnen aus starken Fleischextractlösungen, denen noch Pepton zugesetzt war; fehl schlugen dagegen die Versuche, sie aus Brodinfusen, Traubenzuckerlösungen mit Zusatz von Bouillon oder Liebig'schem Fleischextract, ferner aus einfach verflüssigter Fleischinfuspeptongelatine zu isoliren.

VI.

Physiologische Wirkung des Milzbrandalcaloides.

Uebersehen wir das Resultat der mitgetheilten Thierversuche, so ergibt sich, dass das von uns gefundene Alcaloid äusserst giftig war. Die Vergiftungserscheinungen waren völlig different von den Wirkungen wie sie Maas bei seinen Fäulnissalcaloiden erzielte; es konnte dies oft durch Parallelversuche in der Weise bewiesen werden, dass den Versuchsthieren die gleiche Dosis unserer und der Maas'schen Fäulnissalcaloide injicirt wurde. Die Maas'schen Alcaloide zeigten dabei die von ihm beschriebene Curare, Morphium- und Strychninartigen Wirkungen, während sich die Thiere nach Incorporation unseres Giftes folgendermassen verhielten. Sie wurden zunächst sehr unruhig, liefen hin und her, die Haare sträubten sich, die Herzthätigkeit und die Respirationsbewegungen wurden

frequenter, während die im Rectum gemessene Temperatur um einige Zehntel Grade anstieg. Nach meist kurzer Zeit stellte sich dann eine mehr und mehr zunehmende Somnolenz ein, die Athemzüge wurden tiefer, langsamer, unregelmässig, die Pupillen erweiterten sich; jetzt folgte wohl ein blutig-diarrhoischer Stuhl, meist lagen jedoch die Thiere ganz reactionslos da, bei der Respiration arbeiteten alle Hülfsmuskeln, die Rectumtemperatur sank unter die Norm und der Tod erfolgte, nachdem einige augenscheinlich asphyctische Zuckungen vorausgegangen waren. Subcutane Injectionen von Atropin hatten keinen Einfluss auf den Verlauf dieser Vergiftungserscheinungen. Bei der Section zeigte sich das Herz contrahirt, das Blut dunkelfarbig. Auf dem Pericard und dem Peritoneum fanden sich hier und da Ecchymosen, im Pericard und in der Bauchhöhle zuweilen blutig gefärbte Exsudationen. Es ähnelt dies eben geschilderte Krankheitsbild ganz entschieden den Symptomen, die nach Brieger dem Neurin zukommen; auch bei den Neurinvergiftungen werden die Thiere somnolent, dyspnoisch, sie bekommen dabei aber Speichelfluss und clonische Krämpfe, Erscheinungen, die bei unseren Thieren vollständig fehlten, ebenso wie sich das Atropin in unseren Fällen nicht als ein wirksames Gegengift erwies. Dass nicht alle Thiere durch das Gift getödtet wurden, erklärt sich wohl dadurch, dass dasselbe theilweise durch die Nieren und die diarrhoischen Stuhlentleerungen ausgeschieden wird, verlaufen doch auch beim Menschen selbst schwere Anthraxfälle nicht immer tödtlich. Im Blut der durch das Gift getödteten Thiere fand sich niemals eine Spur von Microorganismen.

Wenn sich mir nun zum Schlusse die Frage aufdrängt, ob denn die durch unser Gift erzeugten Symptome mit denen übereinstimmen, wie sie am milzbrandkranken Thier und Menschen aufzutreten pflegen, so verhehle ich mir durchaus nicht, wie ausserordentlich misslich ein solcher Vergleich ist. Gerade der

Milzbrand ist eine Erkrankung, die unter sehr wechselnden Formen verlaufen kann, aber ich kann doch nicht umhin, wenigstens darauf hinzuweisen, dass unser hervorstechendstes Vergiftungssymptom auch in allen tödtlich verlaufenden Fällen von thierischem Anthrax sehr in den Vordergrund tritt. Es ist das die mit Temperatursteigerung einhergehende Dyspnoe! Wir haben die Temperatursteigerung, die immer stärker werdende Athemnoth unserer Versuchsthiere hervorgehoben, wir haben gesehen, wie sie unter asphyctischen Krämpfen zu Grunde gehen und wir erinnern nun an das Bild, welches uns Bollinger vom milzbrandkranken Thier gibt, in dem er die bei demselben auftretende Dyspnoe, die Cyanose, schliesslich die asphyctischen Erscheinungen auf eine Kohlensäurevergiftung bezieht! Eine gewisse Aehnlichkeit der Erscheinungen ist hier gar nicht zu verkennen und können wir uns recht gut vorstellen, wie unser Gift durch Einwirkung auf die Medulla oblongata diese Erscheinungen hervorrufen kann.

Ob die Somnolenz der Versuchsthiere ebenfalls durch Einwirkung des Giftes auf die Hirncentren entsteht, lassen wir dahingestellt, und erwähnen nur noch, dass wir die Ecchymosen auf den serösen Häuten, die blutigen Extravasationen im Pericard und in der Bauchhöhle, die blutig-diarrhoischen Stühle recht gut erklären können, wenn wir dabei an eine durch das Gift bedingte Alteration der Gefässwände denken.

Literatur.

[1]) Kausch, Ueber den Milzbrand des Rindviehes. Berlin 1805.

[2]) Delafond, O., Traité sur la maladie de sang des bêtes à laine. Paris 1843.

[3]) Gerlach, A., Die Blutseuche der Schafe in Rücksicht der Ursachen. Magazin für Thierheilkunde. Band XI, S. 113. 1845.

[4]) Heusinger, Carl Friedrich, Die Milzbrandkrankheiten der Thiere und des Menschen. Erlangen 1850.

[5]) Virchow, Infection durch contagiöse Thiergifte (Zoonosen). Handbuch der speciellen Path. u. Ther., Bd. II, Abt. I, p. 389. 1855.

[6]) Casper's Vierteljahrsschrift f. ger. u. öff. Med. Bd. VIII, p. 103.

[7]) Virchow's Archiv, Bd. XI, p. 132 (s. Bollinger).

[8]) Davaine, a) Compt. rend. de l'acad. de sciences. T. LVII, p. 220. 1863. b) Recherches relatives à l'action de la chaleur sur le virus charbonneux. Compt. rend. LXXVII, Nr. 13, p. 736. c) Recherches relatives à l'action des substances dites antiseptiques sur le virus charbonneux, ibid. Nr. 15, p. 821. 1873.

[9]) Sanson, Recueil de méd. véter. 1867, p. 257.

[10]) Bollinger Zoonosen, Ziemssen's Handbuch der spec. Path. u. Ther. Bd III. Leipzig 1876.

[11]) R. Koch, a) Beiträge zur Biologie der Pflanzen von F. Cohn, 2. Bd., pag. 277. b) Mittheilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt. Berlin 1881. c) Ueber die Milzbrandimpfung. 1882.

[12]) Pasteur, Bull. de l'Acad. de méd. u. Compt. rend. 1877—83.

[13]) De Bary, Vorlesungen über Bakterien. 1885.

[14]) Bull. de l'Ac. u. Compt. rend. 1877—1885.

[15]) Bollinger, Zur Pathologie des Milzbrandes. München 1872.

[16]) Szpilmann, Ueber das Verhalten von Milzbrandbacillen in Gasen. Zeitschrift für physiolog. Chemie 4.

[17]) Virchow, Fortschritte in der Kriegsheilkunde etc. (Rede). Berlin 1874.

[18]) Siedamgrotzky, Zeitschrift für Thiermedicin. 1875. Bd. I, Heft IV.

[19]) Joffroy, Gaz. méd. de Paris, Nr. 3, p. 38.

[20]) Oemler, H., Berl. Arch. 1876—80.

[21]) Toepper, Die neueren Erfahrungen über die Aetiologie des Milzbrandes. Jena 1883.

[22]) Roloff, Der Milzbrand, seine Entstehung und Bekämpfung. Berlin 1882.

[23]) Feser, Jahresber. von Virchow u. Hirsch. 1876.

[24]) Colin, Compt. rend. u. Bull. de l'Acad. 1876—1880.

[25]) Nencki, Berichte der chemischen Gesellschaft 1884. Heft 16.

[26]) Klebs, Eulenburg's Real-Encyclopädie.

[27]) Neelsen, Archiv für klinische Chirurgie. 1884, Heft IV.

[28]) Frisch, Jahresberichte von Virchow und Hirsch. 1877.

[29]) Panum, Das putride Gift, die Bakterien, die putride Infektion oder Intoxikation und die Septicämie. Virchows' Archiv, Bd. 60, p. 301. 1874.

[30]) C. O. Weber, Experimentelle Studien über Pyaemie, Septicaemie und Fieber. Deutsche Klinik 1864, Nr. 48—51 und 1865, Nr. 2—8.

[31]) Hemmer, Experimentelle Studien über die Wirkung faulender Stoffe auf den thierischen Organismus. München 1866.

[32]) Schwenninger, Ueber die Wirkung faulender organischer Substanzen. München 1866.

[33]) Stich, Charité-Annalen. 1853.

[34]) Thiersch, Pathol.-anat. Beobachtungen über Pyaemie nebst kritischen Bemerkungen über die Theorie der Pyämie. München 1849.

[35]) Bence Jones u. Dupré, Pharmaceutische Centralhalle, XVI, Nr. 10, und Zeitschrift für Chem. u. Pharm. 1866.

[36]) a) Bergmann, Das putride Gift und die putride Infection. I. Abth., Heft I. Dorpat 1868. b) Bergmann u. Schmiedeberg, Centralbl. f. med. Wissensch., 1868, Nr. 32.

[37]) Zuelzer u. Sonnenschein, Berl. klin. Wochenschr., 1869, Nr. 12.

[38]) Rörsch u. Fasbender, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., S. 1064.

[39]) Senator, Zur Fieberlehre. Berl. klin. Wochenschr. 1873, Nr. 11.

[40]) Hiller, Ueber extrahirbares putrides und septicämisches Gift. Centralbl. f. Chirurg., 1876, Nr. 14 u. 15.

[41]) Mikuliez, Ueber die Beziehungen des Glycerins u. s. w. Archiv f. klin. Chirurg., Bd. XXII, p. 253. 1878.

[42]) Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica und den Antheil, welchen sie an der Entstehung und Verbreitung der accidentellen Wundkrankheiten haben. Berlin 1874. Reimer.

[43]) Schwanert, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., VII, S. 1322.

[44]) Moriggia u. Battistini, Gazz. ital. clinic. 1875. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1876.

[45]) Otto, J., Anleitung zur Ausmittelung von Giften. 5. Aufl. Braunschweig. 1875. Bearbeitet von Dr. R. Otto.

[46]) Selmi, Sulle ptomaine ad alkaloidi cadaveri ei etc. Bologna 1878. cf. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1873, S. 142; 1875, S. 1198; 1876, S. 195 u. 197; 1878, S. 808 u. 1838; 1879, S. 279; 1880, S. 206.

[47]) Brugnatelli u. Zenoni, Journal de med. et chimie. LXXVIII, 4. Série, p. 41.

[48]) Cortez cf. Dragendorff's Jahresb. 1878, S. 615.

[49]) Gautier u. Etard, Comptes rendus 94, p. 1601.

[50]) Willgerodt, Ueber Ptomaine. Freiburg i. B. 1883.

[51]) Maas, Fortschritte der Med., 1883, S. 473.

[52]) Brieger, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. VII, S. 274. Verhandl. der phys. Gesellsch. zu Berlin, Jahrg. 1882—1883. Bericht d. deutsch. chem. Gesellsch. XXVI, S. 1186, 1405; XVII, S. 415 u. 1137. Ueber Ptomaine und weitere Untersuchungen über Ptomaine. Berlin, Verlag von Hirschwald. 1885 und 1886.

[53]) Osol, Experimentelle Untersuchungen über das Anthraxgift. Inaug.-Diss. Dorpat 1855.

[54]) W. Koch, Milzbrand u. Rauschbrand. Deutsche Chirurgie, Lief. 9. Stuttgart, Verlag von F. Enke, 1886.

[55]) Gram, Arch. f. experimentelle Pathol. u. Pharmakolog. Bd. XX.